

Departement für Pferde  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Anton Fürst, Dipl. ECVS

---

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)  
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

**Kontinuierliche Dehnung einer Muskel-Sehneneinheit unter  
pharmakologischer Muskelstimulation mit Anabolika und IGF zur  
Behandlung struktureller Muskelveränderungen nach Sehnenriss**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

**Philipp Conze**

Tierarzt  
aus Goslar, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin

Prof. Dr. med. Christian Gerber, Korreferent

Zürich 2012





Departement für Pferde  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Anton Fürst, Dipl. ECVS

---

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)  
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS

**Kontinuierliche Dehnung einer Muskel-Sehneneinheit unter  
pharmakologischer Muskelstimulation mit Anabolika und IGF zur  
Behandlung struktureller Muskelveränderungen nach Sehnenriss**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

**Philipp Conze**

Tierarzt  
aus Goslar, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin

Prof. Dr. med. Christian Gerber, Korreferent

Zürich 2012



**Meiner Familie**



Zusammenfassung .....	1
Summary .....	2
1 Einleitung .....	3
1.1 Problemstellung.....	3
1.2 Zielsetzung der Arbeit.....	4
2 Literaturübersicht .....	5
2.1 Erkrankungen der Rotatorenmanschette und deren Auswirkungen .....	5
2.2 Wirksamkeit von Insulin-like Growth Factor I im Rahmen von Muskelregeneration und Muskelwachstum .....	8
2.3 Anabolische Steroide und deren Wirkung im Zusammenhang mit Muskelwachstum und Muskelregeneration .....	9
2.4 Tiermodelle für Rotatorenmanschettenerkrankungen .....	10
3 Material und Methoden .....	13
3.1 Aufbau der Studie.....	13
3.2 Ankauf und Auswahl der Tiere .....	14
3.3 Operationen .....	15
3.3.1 Vorbereitung.....	15
3.3.2 Präoperative Versorgung.....	16
3.3.3 Anästhesie .....	16
3.3.4 Lagerung und Desinfektion .....	17
3.3.5 Tenotomie.....	17
3.3.6 Implantation des Dehnungsapparates .....	20
3.3.7 Refixation .....	21
3.3.8 Postoperative Versorgung .....	22
3.3.9 Euthanasie .....	23
3.4 Bildgebende Verfahren.....	25
3.4.1 Computertomographie.....	25
3.4.2 Magnetresonanztomographie .....	26
3.5 Sektion.....	26
3.6 Probengewinnung und –aufbereitung.....	27

3.7	Untersuchungsmethoden und Probenauswertung .....	28
3.7.1	Radiologische Auswertung CT .....	28
3.7.2	Radiologische Auswertung MRT .....	29
3.7.3	Auswertung der Sehnenhistologie .....	29
3.7.4	Auswertung der Kraftmessung (Blix-Kurve).....	32
3.7.5	Volumina und Gewichte der Mm. infraspinati .....	32
3.7.6	Körpergewicht der Schafe zu den jeweiligen Zeitpunkten der einzelnen Eingriffe .....	32
3.7.7	Statistik .....	32
<hr/>		
4	Resultate.....	33
4.1	Operationen und postoperative Phase .....	33
4.2	Radiologische Auswertung .....	36
4.2.1	CT .....	36
4.2.2	MRT .....	42
4.3	Auswertung der Sehnenhistologie .....	47
4.4	Auswertung von Muskelgewicht und Muskelvolumen .....	51
4.5	Körpergewicht der Schafe .....	52
<hr/>		
5	Diskussion.....	53
5.1	Das Versuchsmodell .....	53
5.2	Operationen und postoperative Phasen .....	54
5.3	Radiologische Auswertung .....	57
5.3.1	Computertomographie .....	57
5.3.2	Magnetresonanztomographie .....	59
5.4	Probengewinnung und Aufarbeitung .....	61
5.5	Histologische Auswertung .....	61
5.6	Auswertung von Muskelgewicht und Muskelvolumen .....	62
5.7	Körpergewicht der Schafe.....	63
5.8	Schlussfolgerungen und Perspektiven .....	64
<hr/>		
6	Literaturverzeichnis .....	65
<hr/>		
7	Abkürzungsverzeichnis.....	69

8	Anhang .....	70
8.1	Abbildungen .....	70
8.2	Tabellen .....	78

---

Curriculum vitae

Danksagung





## **Zusammenfassung**

In dieser Studie wurde ein etabliertes Schafmodell zur Untersuchung chronischer Rotatorenmanschettenrupturen des Menschen genutzt, um die Wirkung eines Androgens und IGF-I auf den chronisch retrahierten Muskulus infraspinatus zu testen. Durch deren Applikation während einer Phase kontinuierlicher Muskeldehnung sollten Retraktion, Atrophie sowie degenerative Prozesse gestoppt und reversibel gemacht werden. Hierzu wurde zunächst die Sehne des M. infraspinatus einer Vordergliedmaße der Versuchstiere vom Humerus gelöst. Nach 16 Wochen Muskelretraktion wurde die Implantation eines speziellen Dehnungsapparates vorgenommen. In den folgenden 6 Wochen wurde der M. infraspinatus mittels des Apparates kontinuierlich wieder auf seine ursprüngliche Länge gedehnt. Während dieser Zeit wurden zwei Schafgruppen mit dem Androgen oder aber IGF-I behandelt. Eine dritte Gruppe blieb unbehandelt. Nach der Dehnungsphase erfolgte die Refixation der Sehne. 12 Wochen später wurden die Tiere euthanasiert. Anhand verschiedener Untersuchungsmethoden konnten Veränderungen des Muskels und seiner Sehne evaluiert werden. Die Resultate zeigten, dass Muskelretraktion und Muskelatrophie aufgehalten und zum Teil reversibel gemacht werden konnten. Auch eine Erholung der Muskelarchitektur war erkennbar. Weder das Androgen noch IGF-I zeigten nach lokaler Applikation Auswirkungen auf diese Parameter, sodass die Regeneration der Muskelarchitektur vor allem auf die kontinuierliche Muskeldehnung zurückzuführen war.

### Summary

In this experimental study a well-established sheep shoulder model for rotator cuff disease was used to evaluate the effect of an anabolic steroid and IGF-I, applied directly to a chronically retracted infraspinatus muscle. It was expected that muscle function, atrophy and degeneration would recover under continuous traction and would be improved furthermore by the anabolic steroid and IGF-I, respectively. The infraspinatus tendon of the right forelimb was released and allowed to retract over a period of 16 weeks. Thereafter a specially developed traction device was implanted and fixed upon the scapular spine. Afterwards the retracted muscle was stretched stepwise over a six-week period. In group one no further pharmacological stimulation was applied. An anabolic steroid and IGF-I were applied during that period in group two and three, respectively. Subsequently the reattachment of the infraspinatus tendon was performed. After another 12 weeks the sheep were subjected to euthanasia.

Physiological, radiological and histological examinations were performed to evaluate muscle and tendon changes thoroughly.

The results showed that muscle retraction and muscle atrophy were stopped and partially reversed. The pennation angle of the muscle fibers and thereby a normal muscle architecture was almost restored in full. But neither Nandrolon Decanoas nor IGF-I seemed to have a positive effect on the outcome rendering the tension device as the main effect for restoring normal muscle architecture.

# 1 Einleitung

## 1.1 Problemstellung

Risse im Bereich der Sehnen der Rotatorenmanschette gehören beim Menschen mit zu den häufigsten die Schulterfunktion stark einschränkenden Verletzungen. Gut die Hälfte der über sechzigjährigen Menschen und ein noch größerer Anteil der über Achtzigjährigen weisen partielle oder komplette Sehnenrupturen in diesem Bereich auf (1). Nach dem Riss seiner Sehne retrahiert sich der Muskel, so dass, sollte der Versuch einer Refixation vorgenommen werden, starker Zug aufgewendet werden muss, um den Muskel wieder an seinem Ursprungsort zu befestigen. Auch verändert sich während der chronischen Retraktion die Architektur des Muskels. Die Muskelfasern verkürzen sich und ihr Fiederungswinkel vergrößert sich woraufhin sich Fett in die dadurch entstehenden Zwischenräume einlagert (2). Ein Fortschreiten dieser Veränderungen verschlechtert die Prognose. Bisher wird davon ausgegangen, dass die bestehende Muskelatrophie zwar teilweise rückgängig gemacht werden kann, die fettige Infiltration jedoch irreversibel ist. Gerber *et al.* (3) konnten nachweisen, dass kontinuierliche Muskelverlängerung zu einer Wiederherstellung der normalen Muskelarchitektur führt, die Muskelatrophie teilweise rückgängig macht und sogar das Fortschreiten der fettigen Infiltration aufhält. Diesen Ansatzpunkt weiter zu verfolgen, um gegebenenfalls die Behandlungsmöglichkeiten von Rotatorenmanschettenverletzungen weiter verbessern zu können, war das Ziel dieser Studie.

## **1.2 Zielsetzung der Arbeit**

In dieser Studie wurde ein von Gerber *et al.* (3) etabliertes Tierversuchsmodell genutzt, um zunächst die nach Sehnenruptur eintretende Muskelretraktion, fettige Infiltration und Muskelatrophie im M. infraspinatus von Schafen experimentell hervorzurufen. Daraufhin sollte eine reproduzierbare und zuverlässige Technik für die kontinuierliche Dehnung einer retrahierten Muskel-Sehnen-Einheit ohne Perforation der Haut etabliert werden, durch welche versucht werden sollte, die Funktion des chronisch retrahierten Muskels zu verbessern und seine Regeneration zu erreichen. Weiterhin sollte geprüft werden, ob die Applikation von Wachstumsfaktoren wie Insulin-like Growth Factor I oder aber die Applikation von Anabolika während der kontinuierlichen Verlängerung eine Reversion der Muskelveränderungen bewirken und zu einer Regeneration beitragen können. Histologische, mechanische und radiologische (Computertomographie und Magnetresonanztomographie) Untersuchungsmethoden sollten dabei Informationen über Muskel- und Sehnenveränderungen, Muskelfunktion, Muskelretraktion, Muskelatrophie sowie Fiederungswinkel und Länge der Muskelfasern liefern.

## **2 Literaturübersicht**

### **2.1 Erkrankungen der Rotatorenmanschette und deren Auswirkungen**

Leiden im Bereich der Schulter treten beim Menschen nach Rücken- und Knieproblemen als dritthäufigste muskuloskeletale Erkrankung in Erscheinung.

Dabei werden Sehnenrupturen im Bereich der Rotatorenmuskulatur mit zu den häufigsten Gründen von Schmerz- und Funktionseinschränkung im Schulterbereich gezählt. Die Rotatorenmanschette wird vom M. supraspinatus, dem M. infraspinatus, dem M. teres minor und dem M. subscapularis gebildet und ist für die Stabilisation des Schultergelenkes sowie das Heben und Drehen des Oberarmes verantwortlich. Veränderungen der Sehnen und Muskeln dieser Manschette können, wie viele andere Erkrankungen, die mit steigendem Alter häufiger werden, schon zwischen dem 30. und dem 40. Lebensjahr auftreten (4). Nicht jeder Mensch, der Veränderungen der Rotatorenmanschette aufweist, muss aber auch gleichzeitig Symptome spüren. So zeigten Magnetresonanztomographie-Aufnahmen einer Gruppe über 60 Jahre alter Menschen bei 54% der begutachteten Gruppe Anzeichen für partielle oder vollständige Rupturen im Bereich der Rotatorenmanschette, ohne dass die Probanden jedoch über Schulterschmerzen geklagt hätten (5). Es kann davon ausgegangen werden, dass ca. 5-11% der 30 bis 40 jährigen, ca. 50% der über sechzigjährigen und etwa 80% der über achtzigjährigen Menschen von partiellen oder vollständigen Rupturen im Bereich der Rotatorenmanschette betroffen sind (1). Dabei weisen jüngere Personen überwiegend partielle Sehnenrupturen auf, ab einem Alter von 40 Jahren bestehen jedoch etwa 55% der Verletzungen aus vollständigen Rupturen.

Betroffen ist vor allem die Sehne des M. supraspinatus, ob alleine oder in Kombination mit der Sehne des M. infraspinatus oder der Sehne des M. subscapularis. Auch eine Beteiligung der Sehnen aller drei genannten Muskeln kann vorkommen.

Zwar ist bekannt, dass vollständige Rupturen geringer Größe mit der Zeit größer werden können, aber die genauen Gründe für Risse der Sehnen im Bereich der Rotatorenmuskulatur sind bisher noch nicht vollständig geklärt.

Obwohl Traumata als Folgen von Stürzen oder Verrenkungen eine häufige Ursache für Rupturen der Sehnen dieser Muskelgruppe darstellen, kann man davon ausgehen, dass die Sehnen in vielen Fällen schon vor der Verletzung geschädigt gewesen sein müssen.

Die Ursache der Vorschädigung scheint allerdings komplexer zu sein, als bloß im Reiben oder Anschlagen der Sehnen gegen das Akromion oder den oberen Rand des Glenoids zu liegen. Denn auch genetische Prädispositionen werden in diesem Zusammenhang als die Ursache und auch den Verlauf der Veränderung beeinflussende Faktoren diskutiert. Für Geschwister von Patienten mit geschädigter Rotatorenmanschette besteht nämlich eine mehr als zweimal höhere Wahrscheinlichkeit, selbst eine Ruptur im Bereich dieser Muskeln zu erleiden, als für nicht mit einer erkrankten Person dermaßen verwandter Menschen (6,7).

Zudem wird angenommen, dass zusätzlich auch andere intrinsische Faktoren, wie z.B. die Sehnenalterung zur Degeneration der Sehnen beitragen und somit den Beginn für Veränderungen, die zum Riss der Sehne führen, darstellen können. Einige dieser altersabhängigen Veränderungen sind vermehrter Zelltod bzw. kontrollierter Zelltod (Apoptose), Verlust des Faserknorpels an der Insertionsstelle der Sehne, Ausdünnung des Kollagens und chondroide Metaplasie (4). Diese Veränderungen könnten bewirken, dass die Sehnen stärker auf Stress reagieren und die Mikrostruktur somit in Mitleidenschaft gezogen wird, so dass schlussendlich partielle Rupturen oder sogar vollständige Risse resultieren können. Auf einen solchen Sehnenriss folgen nach wenigen Wochen Atrophie, Retraktion und fettige Infiltration der betroffenen Muskelsehneneinheit. Dies wiederum geht mit verminderter Muskelkontraktilität und Elastizität einher (8-11).

Klassifiziert man den Grad der fettigen Infiltration nach Goutallier, so kann man fünf Stadien unterscheiden. Gerber *et al.* haben diesen Stadien einen prozentualen Fettgehalt und die mit diesem korrelierende Zahl von Hounsfield Units zugeordnet (12) (Tab. 1). Sechs Monate nach einer Sehnenruptur kann in der Hälfte aller Fälle eine fettige Infiltration des Grades 2 und nach zwei Jahren bei ebenso nahezu 50% eine des Grades 3 festgestellt werden.

In einer Kaninchenstudie, während derer die Sehne des M. supraspinatus abgetrennt wurde, konnte sogar schon nach einem Zeitraum von vier Wochen fettige Infiltration der Muskulatur erkannt werden. Das Maximum der fettigen Infiltration war hier sechs Wochen nach dem künstlich verursachten „Sehnenriss“ festzustellen (13). Weiterhin wurde erkannt, dass die Retraktion des jeweils betroffenen Muskels stark mit dem Grad der fettigen Infiltration korreliert (14). Während der chronischen Muskelretraktion nach einem Sehnenriss vergrößert sich der Fiederungswinkel der Muskelfasern und trennt somit die einzelnen Muskelfaserbündel, ähnlich der kurzen Seiten eines sich öffnenden

Parallelogramms. Derart entsteht ein freier Raum zwischen den Muskelfaserbündeln, welcher Platz für die Infiltration von Fettgewebe schafft (2) (Abb. 1). Seine kontraktile Funktion bleibt dem Muskel allerdings grundsätzlich erhalten (15).

Nachdem die genaue Pathogenese also noch immer nicht gänzlich geklärt wurde, bleibt auch die richtige Therapie ein Punkt häufiger Diskussion. So stellt sich die Frage ob und in welchen Fällen eine Operation oder aber eine konservative Therapie gewählt werden soll. Die Entscheidungsfindung basiert hier auf der Betrachtung einer Mehrzahl von Faktoren, wie Symptomen, diagnostischen Ergebnissen, Dauer und Art vorangegangener Behandlungen und selbstverständlich der vermutlichen Prognose (16). In diesem Zusammenhang kommt der Beurteilung der Restfunktion des betroffenen Muskels eine zentrale Rolle zu (17). Das diagnostische Mittel der Wahl ist die Magnetresonanztomographie (MRT). Aber sowohl Magnetresonanarthrographie als auch Ultraschalluntersuchungen bieten ebenso einen hohen Grad an Genauigkeit. Im Gegensatz zum MRT ist die Magnetresonanarthrographie allerdings invasiv und sollte somit vor einer sowohl für partielle als auch vollständige Rupturen sehr sensitiven und spezifischen MRT-Untersuchung zurückstehen. Demgegenüber ist eine Ultraschalluntersuchung viel schneller durchführbar und viele Studien haben gezeigt, dass sie eine hohe diagnostische Genauigkeit für vollständige Rupturen besitzt, sofern sie von erfahrenen Diagnostikern durchgeführt wird (16). Zur Bestimmung des Grades an fettiger Infiltration ist auch eine Computertomographie in hohem Masse geeignet (18). Wurde die Entscheidung zur Operation getroffen bestehen verschiedene Möglichkeiten der Vorgehensweise. So kann auf arthroskopischem Wege für subakromiale Dekompression gesorgt werden und die Refixation der Sehne kann daraufhin minimal offen geschehen, oder aber sowohl subakromiale Dekompression als auch Refixation erfolgen arthroskopisch. Weitere Optionen wären lediglich eine arthroskopische Dekompression bzw. nur eine arthroskopische Refixation der Sehne durchzuführen, oder aber beides mit einer offenen Operation zu verbinden. In jedem Falle aber sollte eigentlich immer eine strukturell erfolgreiche Refixation das Ziel einer operativen Behandlung bleiben (19). Insbesondere da die Muskelatrophie bei Patienten mit erfolgreicher Refixation zum Teil vermindert wird und der Grad der fettigen Infiltration unverändert bleibt, wohingegen bei erneuter Ruptur noch zusätzliche Muskelmasse verloren geht und die fettige Infiltration voranschreitet.

Auch wenn eine erneute Ruptur der Sehnen nach einer Operation leider sehr häufig auftritt (20), sind doch nahezu 90% der Patienten mit den Ergebnissen in Hinblick auf



Funktionalität sowie Beweglichkeit des Armes und vorhandene Kraft nach einer Operation zufrieden, einerlei ob eine erneute Ruptur aufgetreten ist oder nicht (21). Um den Ursachen der Rotatorenmanschettenruptur weiter auf den Grund zu kommen, Verbesserungen der Therapieerfolge zu ermöglichen und vor allem eine Möglichkeit zur deutlichen Rückbildung der Muskelatrophie und der fettigen Infiltration zu finden, ist allerdings weitere Forschung auf diesem Gebiet vonnöten.

### **2.2 Wirksamkeit von Insulin-like Growth Factor I im Rahmen von Muskelregeneration und Muskelwachstum**

Die Insulin-like Growth Factors (IGFs) bilden eine Familie von kleinen Peptiden, welche alle dem Proinsulin in ihrer Struktur sehr ähnlich sind und hauptsächlich in Leberzellen, aber auch in anderen fetalen und adulten Körperzellen, wie z.B. den Muskelzellen, gebildet werden. Die Hauptvertreter dieser Familie sind Insulin-like Growth Factor I (IGF-I) und IGF-II. IGF-I besteht aus 70 Aminosäuren und weist ein Molekulargewicht von 7649 Dalton auf. IGF-II wird aus 67 Aminosäuren gebildet und hat ein Molekulargewicht von 7471 Dalton (22).

Während IGF-II eine wichtigere Rolle in der embryonalen Phase zu spielen scheint (23), ist IGF-I eher als ein wichtiger Regulator postnatalen Wachstums zu sehen (24). Durch unterschiedliche Arten des Splicing können vom IGF-I Gen unterschiedliche RNA-Transkripte abgelesen werden, aus denen wiederum die zugehörigen Propeptide abgeleitet werden können. Beim Menschen kommen mindestens drei dieser Isoformen vor. Dies sind IGF-I Ea, der Lebertyp oder die systemische Form, IGF-I Eb, dessen Funktion bisher noch unbekannt ist und schließlich IGF-I Ec, eine autokrine bzw. parakrine Form, welche als Antwort auf mechanische Muskelstimulation und Muskelschädigung exprimiert wird (25). Diese letztgenannte Form wird ihrer Funktion wegen auch als Mechano Growth Factor (MGF) bezeichnet. Zudem wird durch diese Benennung einer Vereinfachung der verwirrenden, zwischen den Spezies oft unterschiedlichen Nomenklatur Rechnung getragen. Diese Splicevariante nennt sich, anders als beim Menschen (IGF-I Ec), bei der Maus IGF-I Eb.

IGF-I ist ein starker Stimulator des Skelettmuskelwachstums. Es bewirkt eine Zunahme der Aminosäureaufnahme und der Proteinsynthese und verringert gleichzeitig den Proteinabbau (22,23). Weiterhin stimuliert es die Proliferation und Differenzierung von Skelettmuskelzellen (26). Auch eine neuroprotektive Wirkung wird für IGF-I beschrieben. So fördert es die Myelinisierung, beugt Apoptose vor und stimuliert die

Axonaussprossung, sowie die Heilung geschädigter Axone (27). Da IGF-I zu Muskelhypertrophie führt (28) und auch, wie in einer Studie von Elisabeth Barton-Davis (29) gezeigt, altersabhängige Muskelveränderungen bei Mäusen in bemerkenswertem Ausmaß verhindert und zu einer Kraftsteigerung bis zu 27% führen kann, wäre auch ein potentieller Nutzen im Zusammenhang mit der Muskelatrophie nach Rotatorenmanschettenabriß möglich.

Die Quelle für die zum Wachstum, zur Wiederherstellung nach Verletzung und zur Hypertrophie des postmitotischen Gewebes Skelettmuskel nötigen Zellkerne stellen die Satellitenzellen (Progenitorzellen) dar. Dies sind einkernige Muskelstammzellen, die unterhalb der Basallamina, aber noch außerhalb der Muskelfasermembran zu finden sind (25,30). Wird Muskelgewebe beschädigt, so kann über einen kurzen Zeitraum von etwa zwei Tagen eine vermehrte Produktion von MGF festgestellt werden, gefolgt von einer länger andauernden Expression von IGF-I Ea. MGF bewirkt eine rapide Proliferation der Satellitenzellen, inhibiert allerdings deren terminale Differenzierung. Diese wird dann durch IGF-I Ea initiiert. Dabei ist zu bemerken, dass der Abfall der MGF-Konzentration sich reziprok zum Anstieg an IGF-I Ea verhält (24).

Auch durch mechanische Muskeldehnung kann die Expremierung von IGF-I und infolge dessen eine Erhöhung der Proteinsynthese und Muskelmassezunahme ausgelöst werden (26,31).

### **2.3 Anabolische Steroide und deren Wirkung im Zusammenhang mit Muskelwachstum und Muskelregeneration**

Der Wirkstoff in Deca-Durabolin® ist das anabolische Steroid Nandrolon (19-Nortestosteron). Bei gesunden Männern bewirken anabolische Steroide in supraphysiologischen Dosen eine Erhöhung von fettfreier Masse, eine Vergrößerung des Muskelumfangs und eine Verstärkung der Muskelkraft (32). Diese Tatsache kann genutzt werden, um alternden Menschen zu helfen. Denn das Altern geht beim Menschen mit einer Verminderung der Skelettmuskelmasse und Kraft einher. Dies wird auch durch niedrigere Spiegel anabolischer Hormone und einen allgemein verminderten Muskelprotein-Turnover bei älteren Menschen bedingt. Durch Ersatz von Testosteron in physiologischen Mengen können somit Muskelmasse und Kraft wieder erhöht werden (33,34). Die Zunahme von Muskelmasse liegt wohl auch an der durch Testosteron verursachten Erhöhung der Proteinsynthese. Ferrando *et al.* (35) konnten zeigen, dass nach intramuskulärer Injektion von 200 mg Testosteron bei gesunden Männern eine

zweifache Erhöhung der Proteinsynthese zu verzeichnen war, wohingegen der Proteinabbau unverändert blieb. Weiterhin wurde postuliert, dass Testosteron auch zu einer vermehrten Wiederverwendung von intrazellulären Aminosäuren im Skelettmuskel führt (35,36). So kann Testosteron eine durch Fasten entstehende negative Aminosäurebilanz wieder ausgleichen. Die durch exogenes Testosteron bedingte Zunahme von Muskelmasse wird durch eine Vergrößerung des Muskelfaservolumens, nicht aber durch eine Erhöhung der Muskelfaserzahl bedingt (37). Es wird nämlich eine Vermehrung der Satellitenzellzahl verursacht und deren Differenzierung sowie folgende Verschmelzung mit Muskelfasern angeregt. Somit erhöht sich die Muskelzellkernzahl und der Muskelfaserquerschnitt vergrößert sich, so dass es zu Muskelhypertrophie kommt (37-39). Weiterhin wird vermutet, dass Satellitenzellen direkt durch Androgene beeinflusst werden, da sie selbst Androgenrezeptoren exprimieren können (40). Die Exprimierung dieser Rezeptoren kann wiederum durch exogene Androgene stimuliert werden (36).

Über welche Mechanismen genau Androgene die Satellitenzellproliferation stimulieren, ist allerdings noch nicht geklärt. Es wird eine Beteiligung von IGF-I diskutiert, da die Gabe von Testosteron sowohl den Blutspiegel von IGF-I als auch dessen Konzentration in der Muskulatur bei normalen Männern sowie auch bei Rindern erhöht und so der anabole Effekt von Androgenen auch indirekt über die Stimulation der IGF-I Produktion im Skelettmuskel verursacht werden könnte (35,40). Da anabolische Steroide in der amerikanischen Rinder- und Schafzucht schon seit mehreren Jahren in Form von wachstumsfördernden Implantaten Anwendung finden (41) und auch Fritsche *et al.* (42) in einer Studie deren Wirksamkeit bei Schafen nachgewiesen haben, liegt die Hoffnung nahe, dass auch bei einem Schafmodell zu Sehnenrissen der Rotatorenmanschettenmuskulatur positive Veränderungen durch deren Einsatz zu bewirken sein könnten. Führt man sich die genannten Effekte von Anabolika vor Augen, so ist die Vermutung, dass sie die nach Sehnenriss und Retraktion eintretende Muskelatrophie zumindest zum Teil rückgängig machen könnten nachvollziehbar.

## 2.4 Tiermodelle für Rotatorenmanschettenerkrankungen

Um die Ursachen der Rotatorenmanschetten-„Erkrankung“ und die ihr zu Grunde liegenden Veränderungen näher untersuchen zu können, sind schon verschiedene Tiermodelle zum Einsatz gekommen. Grundsätzlich sollte eine für ein Tiermodell gewählte Spezies dem Menschen anatomisch und physiologisch so ähnlich wie möglich

sein. Es sollte sich also um eine phylogenetisch recht hochstehende Tierart handeln. Andererseits muss die Wahl auch ethisch-moralisch gut zu vertreten sein, und die entstehenden Kosten für Anschaffung sowie Unterbringung und Betreuung der Tiere dürfen bei der Entscheidungsfindung auch nicht außer Acht gelassen werden. Weiterhin müssen auch Verfügbarkeit, Toleranz der Gefangenschaft durch die Tiere und die tierschutzrechtlich notwendigen Haltungsbedingungen für jede Tierart geprüft werden (43,44).

Im Zusammenhang mit Sehnen- und Muskelveränderungen nach experimentell verursachten Sehnenrissen wurden bereits Ratten, Kaninchen, Hunde und auch Schafe als Versuchstiere genutzt (3,10-13,15,45-49).

Für die Ratte als Versuchstier spricht sicherlich ihre Größe, da somit die Haltungs- und Anschaffungskosten gering gehalten werden können und aus ethischer Sicht wenn möglich auch immer die kleinste Tierart für ein Forschungsmodell gewählt werden sollte. Weiterhin ist die Anatomie der Rattenschulter der des Menschen sehr ähnlich (50). Allerdings kann bei dieser Tierart keine fettige Infiltration nach Sehnenabriss mit folgender Retraktion der Sehnen-Muskel-Einheit reproduziert werden (45), wie dies beim Menschen der Fall ist. Dies macht somit die Ratte für die Erforschung der Zusammenhänge in diesem Bereich untauglich. Hunde zeigten sich bei Safran *et al.* (11) als geeignetes Tiermodell zur Untersuchung der Rotatorenmanschettenproblematik. Die Anatomie der Schulter ist der des Menschen ähnlich und auch die pathologischen Veränderungen, wie fettige Infiltration und Muskelretraktion sind vergleichbar. Allerdings stehen bei dieser Tierart ethische Bedenken einer Nutzung in der medizinischen Forschung entgegen, denn der Hund nimmt als Begleiter und Weggefährte schon seit frühester Geschichte einen besonderen Platz an der Seite des Menschen ein. Zunehmend wird die Nutzung von Haustieren in der Wissenschaft von der Gesellschaft mit Unwillen betrachtet. Anderes gilt für Nutztiere, wie Schafe. Diese haben dem Menschen schon immer als Nahrungsquelle und Wolllieferant gedient und die gesellschaftliche Akzeptanz ist, auch wenn es um die Nutzung im Forschungsbereich geht, größer. So hat sich die Zahl der Forschungsprojekte mit Schafbeteiligung in der orthopädischen Forschung zwischen 1989 und 2001 etwa verdoppelt (44). Auch im Bereich der Rotatorenmanschetten-„Erkrankungen“ hat sich das Schaf als Tiermodell etabliert. Die Retraktion der Rotatorenmuskulatur nach Sehnenabriss sowie deren fettige Infiltration sind reproduzierbar und somit konnten schon anatomische, physiologische, histologische, und radiologische Charakteristika der

nach Sehnenriss retrahierten Muskel-Sehneneinheit am Schaf beschrieben werden (3,12,15,48).

Ebenso ist das Kaninchenmodell als erfolgreiches Modell für Sehnenrisse der Rotatorenmanschette beschrieben worden (13,49). Sowohl Muskelatrophie als auch Retraktion und fettige Infiltration konnten nach Tenotomie des M. supraspinatus nachgewiesen werden. Und auch im Allgemeinen sind Kaninchen gut für Tiermodelle geeignet, da der Umgang mit ihnen sehr einfach ist und sie durch ihre geringe Größe einfach zu halten sind. Die entstehenden Kosten bleiben entsprechend niedrig. Weiterhin sind Kaninchen für die orthopädische Forschung besonders geeignet da sie bereits nach etwa sechs Monaten körperlich voll ausgewachsen sind. Im Zusammenhang mit der Testung von Implantaten stellt die sonst vorteilhafte geringe Körpergröße der Kaninchen allerdings einen Nachteil dar. Da sowohl die Anzahl als auch die Größe der Implantate stark limitiert bleibt (44). Die Wahl einer bestimmten Tierspezies für ein Tiermodell muss folglich jeweils gründlich abgewogen werden. Alle Vor- und Nachteile sowie die erwünschten Ziele müssen in der Güterabwägung bedacht werden und es sollte nicht vergessen werden Tiermodelle nur dann zu verwenden, wenn der durch sie zu gewinnende Wissensfortschritt als bedeutend, verwendbar und direkt dem Menschen oder Tier zugutekommend eingestuft wird.

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Aufbau der Studie**

Diese experimentelle Studie wurde nach den gesetzlichen Bestimmungen des schweizerischen Tierschutzgesetzes durchgeführt und erhielt nach Bewilligung vom kantonalen Veterinäramt die Bewilligungsnummer 89/2009.

Als Versuchstiere wurden 20 Schafe verwendet, welche in drei Gruppen zu je sechs Tieren eingeteilt wurden. Die zwei zusätzlichen Schafe wurden als Reserveschafe geführt, um sie je nach Notwendigkeit bei Ausfällen einer der drei Gruppen zuteilen zu können. Sie wurden zeitgleich mit der dritten Gruppe operiert, ein Tier wurde zur ersten, das zweite zur zweiten Gruppe hinzugefügt.

Alle drei Gruppen durchliefen drei operative Eingriffe, bei denen jeweils auch eine Kraftmessung des Muskels mit einem speziellen Newtonmeter und eine Biopsie Entnahme durchgeführt wurden.

In der ersten Operation wurde die Tenotomie der Sehne des M. infraspinatus der rechten Schulter der Schafe durchgeführt. Direkt im Anschluss an diese Operation wurde eine computertomographische Untersuchung der Vordergliedmaße vorgenommen.

Nach 16 Wochen, die Schafe verbrachten nach einer vierzehntägigen Rekonvaleszenz den Großteil dieser Zeit auf einem Bauernhof im Aargau, erfolgte die Implantation eines Dehnungsapparates. Dies war eine eigens für diesen Zweck von der Firma Synthes in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. med. C. Gerber, PD Dr. med. D. Meyer und Dr. med. M. Farshad der Uniklinik Balgrist entwickelte Spannvorrichtung (Abb. 2 und Abb. 3) zur schrittweisen Dehnung des M. infraspinatus. Dieser Dehnungsapparat wurde an der Spina scapulae der rechten Schulter befestigt und mit dem Knochenfragment-Sehnen-Komplex des tenotomierten M. infraspinatus verbunden. Durch das Herunterdrücken eines Hebels konnte der Hals der Spannvorrichtung pro Hebelbetätigung um 0.125 mm ausgefahren und so der M. infraspinatus langsam um diese Strecke gedehnt werden. Jeweils vor der Implantation des Dehnungsapparates wurden die Schafe erneut einer computertomographischen Untersuchung unterzogen.

In den folgenden sechs Wochen wurden die Spannerhälse täglich um 1 mm weiter ausgefahren und die Ausfuhrlänge zweimal im Abstand von 14 Tagen mittels Computertomographie (CT) kontrolliert.

Bei den sechs Schafen der zweiten Gruppe wurden zusätzlich am Ende der Implantation des Dehnungsapparates und danach noch zweimal im Abstand von je zwei Wochen im direkten Anschluss an die CT's 3 ml Nandrolon Decanoas (Deca-Durabolin<sup>®</sup>, 50 mg/ml, Organon AG, Pfäffikon, Schweiz) unter sterilen Kautelen in den M. infraspinatus injiziert.

Den Schafen der dritten Gruppe wurden zum Zeitpunkt der Implantation des Dehnungsapparates am Ende der Operation 267 µg Insulin-like growth factor-I (IGF-I, IGF-I PLGA Mikropartikel, Pharmazeutische Technologie, IBT, ZHAW, Campus Reidbach, 8820 Wädenswil, Schweiz) intramuskulär an mehreren Stellen je im Abstand von 2 cm zur Spina scapulae in den M. infraspinatus appliziert.

Die Gruppe I diene als Referenzgruppe ohne zusätzliche Behandlung.

Sechs Wochen nach der Implantation des Dehnungsapparates konnte die Refixation der zu diesem Zeitpunkt bis mehr oder weniger zum ursprünglichen Insertionspunkt gedehnten Sehnen vorgenommen werden.

Nach einem Zeitraum von weiteren 12 Wochen, während sie in den Stallungen des Tierspitals untergebracht waren, wurden die Tiere nach der Durchführung einer weiteren computertomographischen Untersuchung, Kraftmessung und Biopsieentnahme euthanasiert.

### **3.2 Ankauf und Auswahl der Tiere**

Zu Beginn der Studie waren die 20 weiblichen weißen Alpenschafe nach Zahnalterschätzung etwa 19 Monate alt und wogen im Durchschnitt 54.5 kg (47 kg – 63 kg). Alle Schafe stammten aus einer großen Herde, die aus selbst gezogenen, zum größten Teil aber im Alter von 6-8 Monaten angekauften, für Studienzwecke gehaltenen Schafen besteht. Diese Herde wird auf einem Bauernhof im Aargau in großen Stallungen und auf großen Wiesen gehalten. Die Versuchstierherde wurde zweimal jährlich geschoren, alle sechs Wochen einer Klauenpflege unterzogen und regelmäßig alle zwölf Wochen alternierend mit Netobimin (Hapadex<sup>®</sup> 5%, 0.4 ml/kg p.o., Berna Veterinärprodukte AG, Bern, Schweiz), Triclabendazol + Levamisol (Endex<sup>®</sup> 9,5%, 0.2 ml/kg p.o., Novartis AG, Bale, Schweiz) oder Praziquantel (Cestodur<sup>®</sup>, 3.75 mg/kg p.o., Bayer AG, Leverkusen, Deutschland) entwurmt.

Zusätzlich wurden bei jedem neuen Ankauf alle Tiere einer gründlichen Untersuchung unterzogen, so dass nur augenscheinlich gesunde Tiere Aufnahme in die Herde fanden.

Diese erhielten eine antiparasitäre Behandlung mit Moxidectin p.o. (Cydectin® 0,1% Orale Lösung, 0.2 mg/kg entspricht 0.2 ml/kg p.o., Wyeth Pharmaceuticals, 6301 Zug, Schweiz) und zweimalig im Abstand von vier bis sechs Wochen zur Grundimmunisierung und daraufhin ein mal jährlich eine Impfung gegen tierartsspezifische Clostridien- und Pasteurelleninfektionen (Ovilis® Heptavac P ad us. vet., 2 ml s.c., Intervet, Veterinaria AG Zürich, Schweiz). Weiterhin wurde zweimalig im Abstand von vier bis sechs Wochen zur Grundimmunisierung und daraufhin ein mal jährlich ein inaktivierter Moderhinke-Impfstoff (Footvax® ad us. vet., 1 ml s.c., Provet AG, 3421 Lyssach, Schweiz) injiziert. Zusätzlich wurde den Schafen, um trächtige Tiere von den Studien auszuschließen, nach negativer rektaler und transabdominaler Ultraschalluntersuchung zusätzlich Prostaglandin F2 $\alpha$  (Dinolytic® ad us. vet., 2 ml s.c., Pfizer AG, Zürich, Schweiz) appliziert. Trächtige Tiere wurden nicht angekauft.

Weiterhin wurde den Tieren am Tage des Ankaufs mit Hilfe eines Vakutainer Systems (Vacuette®, Greiner bio-One GmbH, Kremsmünster, Österreich) Blut aus der Vena jugularis (V. jugularis) entnommen, um eine serologische Untersuchung auf Maedi/Visna-Antikörper am Virologischen Institut der Universität Bern durchzuführen. Es wurden nur Maedi/Visna-negative Tiere in die Versuchstierherde und somit auch in diese Studie aufgenommen.

Zuletzt wurden die Schafe am Tage des Ankaufs noch einer gründlichen Klauenpflege unterzogen und erhielten eine bestandseigene Ohrmarke zur Kennzeichnung.

### **3.3 Operationen**

#### **3.3.1 Vorbereitung**

Jeweils zwei Wochen vor der ersten Operation wurden die Schafe dieser Studie gruppenweise zur Eingewöhnung in einen Stall des Tierspitals in Zürich verbracht. Wenige Tage vor den einzelnen Operationen erfolgte eine Blutentnahme aus der V. jugularis. Das gewonnene Blut wurde hämatologisch und blutchemisch untersucht, um anhand der ermittelten Parameter eventuelle Operationsrisiken ausschließen zu können. Schließlich wurden die Schafe noch gewogen und im Bereich der rechten Schulter und Vordergliedmaße sowie an der rechten Halsseite geschoren. Die letzten 24 Stunden vor den Operationen verbrachten die Schafe in einer mit Sägespänen eingestreuten Box. Sie hatten freien Zugang zu Wasser, das Futter wurde ihnen allerdings entzogen.



### 3.3.2 Präoperative Versorgung

Zur Prämedikation wurde den Schafen etwa eine halbe Stunde vor Operationsbeginn nach präanästhetischer Untersuchung, bestehend aus einer allgemeinen Untersuchung sowie gründlicher Herz- und Lungenauskultation, Xylazin (Xylazin® Streuli ad us. vet., 0.1 mg/kg, Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz) und Buprenorphin (Temgesic®, 0.01 mg/kg, Essex Chemie AG, Luzern, Schweiz) intramuskulär injiziert.

Kurz vor der Narkoseeinleitung wurde die rechte Halsseite mit Hibiscrub® (Chlorhexidini digluconas 40 mg, Globopharm AG, Küssnacht, Schweiz) und Alkohol (Ethanol ketoniert 80%, Kantonsapotheke Zürich, Zürich, Schweiz) aseptisch vorbereitet, um einen Venenverweilkatheter (BD Angiocath, 14 GA, Becton Dickinson AG, Schweiz) in die rechte V. jugularis legen und mit mehreren Einzelheften aus nicht resorbierbarem Nahtmaterial (Supramid 2/0 3metric, Braun, Aesculap AG & CO.KG, Tuttlingen, Deutschland) befestigen zu können.

Zum Verschluss des Katheters wurde ein IN-Stopper (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) genutzt.

Peri- und postoperativ erhielten die Tiere prophylaktisch als Antibiose intravenös Benzylpenicillin (Penicillin Natrium Streuli ad us. vet., 30000 I.U./kg, G.Streuli&Co AG, Uznach, Schweiz) und Gentamicin (Vetagent®, 4 mg/kg, Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) und zur Analgesie Carprofen (Rimadyl®, 4 mg/kg, Pfizer AG, Zürich, Schweiz). Auch eine Tetanusprophylaxe wurde den Schafen jeweils vor den Operationen subkutan in Form von Tetanusserum (Tetanus-Serum Intervet®, 3000 I.U., Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) verabreicht.

### 3.3.3 Anästhesie

Zur Einleitung der Anästhesie wurden Diazepam (Valium®, 0.1 mg/kg, i.v., Roche Pharma AG, Rheinach, Schweiz), Ketamin (Narketan 10®, 3-5 mg/kg, i.v., Vetoquinol AG, Belp-Bern, Schweiz) und Propofol (Propofol 1% MCT Fresenius, 0.2-0.4 mg/kg, i.v., Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) genutzt. Um die endotracheale Intubation zu vereinfachen wurden zur lokalen Betäubung des Kehlkopfes zwei Sprühstöße Xylocainspray (Xylocain®, 10% Spray, AstraZeneca AG, Zug, Schweiz) unter Sichtkontrolle und Zuhilfenahme eines Laryngoskopes direkt auf die Schleimhaut des Larynx gesprüht. Daraufhin konnte nach einer Einwirkzeit des Lokalanästhetikums von 30 Sekunden das Tier mit einem Tubus der Größe 11 intubiert werden. Die Narkoseerhaltung geschah mittels Isofluran-Sauerstoffgemisch-Inhalation (Attane™

Isoflurane ad us. vet., 1-1,5%, Provet AG, Lyssach, Schweiz) und Propofoldauerinfusion (Propofol 1% MCT Fresenius, 1 mg/kg/h, Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) per Spritzenpumpe (Perfusor<sup>®</sup> compact S, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland).

Die Tiere wurden weiterhin über eine Dauertropfinfusion mit 10 ml/kg/h einer Ringer-Laktat-Lösung (Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) versorgt und während der gesamten Anästhesiedauer engmaschig mittels EKG, Blutdruckmessung, Pulsoxymetrie und Kapnographie überwacht. Zum Schutz vor Austrocknung wurde Vitamin A Augensalbe (Vitamine A <Blache>, Vitamin A (Retinolpalmitat) 15000 I.E./g, Bausch & Lomb Swiss AG, Steinhausen, Schweiz) auf die Kornea beider Augen aufgetragen.

### **3.3.4 Lagerung und Desinfektion**

Für die Operationen wurden die Tiere in linker Seitenlage positioniert. Damit beide Vorderbeine in einem physiologischen Abstand zueinander gehalten werden konnten, wurde eine Zellstoffrolle in deren Zwischenraum gelegt. Zusätzlich wurden beide Beine im Karpalgelenk angewinkelt. Um die rechte Schulter im Verhältnis zum Hals etwas anzuheben, wurde die linke Schulter je nach Bedarf mit einigen Lagen Zellstoff unterfüttert (Abb. 4).

Das Operationsfeld wurde auf standardisierte Weise aseptisch vorbereitet. Dazu wurde der Bereich der rechten Schulter großflächig mit Hibiscrub<sup>®</sup>, Alkohol und Hibitane-Desinfektionsspray (Hibitane<sup>®</sup> Tinktur, SSL Healthcare, Schweiz AG, Reinach/BL) gewaschen, entfettet, desinfiziert und daraufhin mit einem Extremitätentuch (Steri-Drape<sup>™</sup>, Extremity Drape, 3M Health Care, Neuss, Deutschland) steril abgedeckt.

### **3.3.5 Tenotomie**

Der Hautschnitt erfolgte mit einer Skalpellklinge der Größe 22. Die ca. 15 cm lange von proximal nach distal geführte Inzision wurde 1.5 cm dorsal und kaudal des Akromions begonnen, um leicht konvex nach kranial gebogen, dem Verlauf der Spina scapulae zu folgen. Zuerst wurde der M. deltoideus unter Nutzung eines Elektrokauters (Monopolar 300W/500 Ohm, Bipolar 120W/75 Ohm, Frequenz 330kHz, BOWA-electronic GmbH, 72810 Gomaringen, Deutschland) zur Blutstillung freipräpariert, die Freilegung der Sehne des M. infraspinatus schloss sich an. Nun folgte die Muskelbiopsieentnahme mit einer True Cut Biopsienadel aus dem M. infraspinatus 4 cm kaudo-proximal des Akromions.

Eine weitere Biopsie wurde mit dem Skalpell (Klinge Nr.11) aus der Sehne des gleichen Muskels nahe ihres Ansatzes am Tuberculum majus humeri entnommen. Beide Biopsieentnahmestellen wurden zur Kennzeichnung mit nicht resorbierbarem Nahtmaterial (Supramid® 2/0 3metric, Braun, Aesculap AG & CO.KG, Tuttlingen, Deutschland) verschlossen. Daraufhin wurde die Sehne des M. infraspinatus an ihrem Ansatz am Tuberculum majus humeri (T. majus) mittels Osteotomie eines kleinen Knochenfragmentes vom Humerus gelöst. Zur Osteotomie wurden ein Piezzosurgery-Gerät (Mectron, Italien) mit einer Ausgangsleistung des Handstückes von 5 W und einer Arbeitsfrequenz von 25 bis 30 kHz, sowie zum Abheben des Knochenstückes ein Osteotom und Hammer verwendet. Nach zentraler Durchbohrung des Knochenfragmentes mit einem 2er Bohrer, konnte ein FiberWire 5 (FiberWire® Suture Family, Arthrex Med. Inst. GmbH, Karlsfeld, Deutschland) durch das gebohrte Loch gefädelt und y-artig um das Knochenfragment gelegt werden. Zusätzlich wurde der FiberWire mit modifizierter Maison-Allen Nahttechnik in der Sehne verankert. (Abb. 5) Nun konnte die biomechanische Messung mit einem speziellen Newtonmeter (entwickelt von Dr. med. Mazda Farshad in Zusammenarbeit mit PD Dr. med. Dominik Meyer, Balgrist) (Abb. 6) durchgeführt werden. Für diese Kraftmessung wurde eine kalibrierte piezoelektrische Kraftmesszelle (Modell Typ 9203, Kistler, Winterthur, Schweiz) mit dem Kraftsensor des Newtonmeters, das über ein integriertes Vordehngerät theoretisch eine Vordehnung von 9 cm erlauben würde, verbunden. Intraoperativ wurde dann ein 62 cm langer, sterilisierbarer Metallstab mit einer dreizackigen Spitze in eine Arthroskopiehülle (Drapex camera Drape, drapex, Mosta MST02, Malta) eingeführt. Über ein Verbindungsstück wurde dieser Führungsstab in seinem hinteren Drittel mit dem Newtonmeter zu einem Komplex zusammengeführt. Dies geschah weiterhin unter Einhaltung der sterilen Kautelen.

Nun wurde ein sterilisierbarer kurzer Metallstab, an einem Ende eine Öse, am anderen ein Gewinde aufweisend, durch die Arthroskopiehülle hindurch mit dem Gewinde am Sensor des Newtonmeters festgeschraubt.

Daraufhin wurde das dreizackige Ende des Führungsstabes stabil am Akromion platziert. Der am Knochenfragment-Sehnen-Komplex fixierte FiberWire konnte daraufhin an der Öse des kurzen Metallstabes mit mehreren gegenläufigen Knoten befestigt werden. Zur elektrischen Stimulation des N. suprascapularis wurde eine Klebe-Elektrode (Sterile post operative Electrode self-adhering, Part 430S EP84580, American Imex, Irvine CA 92606, USA) auf dem M. deltoideus im Bereich des

proximalen Endes des M. infraspinatus und eine Nadelelektrode (20° Stimulation Needle 21G/0,8 mm x 90 mm, 78420 Carrières-sur-Seine, Frankreich) in der Nähe des Akromions im M. Infraspinatus platziert.

Daraufhin konnte mit der Vordehnung der Knochenfragment-Sehnen-Muskel-Einheit begonnen werden. Hierzu wurde das Vordehngerät kontinuierlich zurückgedreht, bis eine Vorspannung von 60 N erreicht war.

Um während der Stimulation einen Verlust der Vorspannung durch Zusammenzug der Knoten des FiberWires zu verhindern, wurde der Muskel vor Beginn der eigentlichen Messung einmalig mit 20 mA, 25 Hz und einem Pulsabstand von 180 µs über 0,3 Sekunden stimuliert. Im Anschluss an die Stimulation wurde erneut eine Vorspannung von 60 N erzeugt, indem das Vordehngerät wiederum kontinuierlich zurückgedreht wurde. Die Messung erfolgte indem supramaximale Stimulationen mit 20 mA und 25 Hz über 0,3 Sekunden durchgeführt wurden, wobei die Vorspannung schrittweise um je 5 mm reduziert wurde. Die Vorspannung bei jeder vorgegebenen Länge und die jeweilige maximale Kontraktionskraft wurden mit der Kistler-Kraftmesszelle verfolgt und auf einem Computer (National Instruments DAQ, Model USB-6009; Programm Signal Express) aufgezeichnet.

Nach Abschluss der Messungen wurde eine auf passende Länge zurechtgeschnittene Penrose Drainage (Medi Drain<sup>®</sup>, Silikon Penrose Kapillar Drain, 12 x 300 mm, Dispomedica, 22041 Hamburg, Deutschland) über das Knochenfragment gezogen und mit nicht resorbierbarem Nahtmaterial (Supramid 2/0 3metric, Braun, Aesculap AG & CO.KG, Tuttlingen, Deutschland) am Knochenfragment und der Sehne fixiert. Dieser Drain sollte verhindern, dass das Knochenfragment sich wieder mit dem Knochen verbindet bzw. dass Spontanheilung durch Bildung einer „Neosehne“ eintritt und gleichzeitig das spätere Wiederauffinden des Fragmentes erleichtern.

Der Verschluss der Operationswunde geschah in drei Lagen. Die Muskulatur und die Unterhaut wurden einfach fortlaufend mit 2/0 Vicryl (Ethicon Vicryl<sup>®</sup>, Johnson & Johnson AG, 8957 Spreitenbach, Schweiz) genäht. Der Verschluss der Haut erfolgte mit 2/0 Supramid durch Einzelhefte. Zum Schutz vor Kontamination wurde eine sterile Kompresse oder eine Mesorb Wundabdeckung (Mesorb<sup>®</sup>, 15 x 23 cm, Möllycke Health Care AB, 40252 Göteborg, Schweden) verwendet und mit sechs Einzelheften an der Haut fixiert. Direkt im Anschluss an die Operation erfolgte eine computertomographische Untersuchung (siehe Punkt 3.5.1).

### **3.3.6 Implantation des Dehnungsapparates**

Vor Beginn der Operation wurden die Tiere einer computertomographischen Untersuchung unterzogen. Im direkten Anschluss daran wurden sie unter Anästhesie in Brust-Bauch-Lage in den Operationssaal befördert und dort wie unter Punkt 3.3.4 beschrieben vorbereitet.

Der Hautschnitt wurde entlang der von der Tenotomie zurückgebliebenen Narbe gesetzt. Der M. deltoideus wurde wiederum unter Nutzung eines Elektroauters freipräpariert, so dass daraufhin die in die Penrose Drainage eingenähte Sehne des M. infraspinatus aus dem Narbengewebe freigelegt und mobilisiert werden konnte. Nun wurde der Abstand von der Mitte des Knochenchips bis zur Mitte des Tuberculum majus humeri gemessen und daraufhin die biomechanische Messung mit dem speziellen Newtonmeter entsprechend der Tenotomie-Operation (siehe 3.3.5) durchgeführt, nur dass diesmal die Vordehnung nur in Schritten von 3 mm reduziert wurde. Für diese Kraftmessung wurden der von der Tenotomie noch vorhandene, y-artig durch das Knochenfragment gefädelt FiberWire und falls nötig ein oder zwei weitere mittels Maison-Allen-Nahttechnik an der Sehne befestigte FiberWire der Größe 5 oder 2 genutzt. Nach erfolgreichem Abschluss der Kraftmessung wurde erneut je eine Biopsie aus dem M. infraspinatus 4 cm caudo-proximal des Akromions mittels einer True Cut Biopsienadel und mit dem Skalpell (Klinge Nr.11) aus dessen Sehne nahe der alten Biopsiestelle entnommen. Die beiden Biopsieentnahmestellen wurden zur Kennzeichnung mit nicht resorbierbarem Nahtmaterial (2/0 Supramid®) verschlossen. Daraufhin wurde wie bei der Tenotomie eine Penrose Drainage (12 mm) über das Knochenfragment gezogen, um erneut eine „Neosehnen“-Bildung und zu starke Einbindung in Narbengewebe zu verhindern. Die Penrose Drainage wurde diesmal jedoch nur seitlich mit nicht resorbierbarem Nahtmaterial am Knochenfragment und der Sehne fixiert, so dass die FiberWire 2 und 5 vorne aus der Penrose Drainage herausragen konnten. Unter Zuhilfenahme eines Elektroauters wurde nun die Spina scapulae auf der Seite des M. supraspinatus freipräpariert, um daraufhin den Dehnungsapparat und bei allen Schafen der zweiten und dritten Gruppe einen neu entwickelten dazugehörigen Schutzbügel für den Ausfuhrhebel mit 2.4 mm LCP Schrauben verschiedener Längen an der Spina scapulae zu fixieren (Abb. 7). Das Knochenfragment wurde mit den FiberWire an der Hülse des Spannerkopfes befestigt. Nach der erfolgten Implantation wurden der Abstand der Akromionspitze zum Spannerhals, der Abstand des Knochenchipendes zum Bügel des Spanners und die

Ausfuhrlänge des Spanners notiert. Daraufhin erfolgte eine erneute Stimulation zur Sicherstellung einer intakten Innervation des N. suprascapularis. Eine Schädigung durch Präparation im Bereich der Spina scapulae konnte somit ausgeschlossen werden.

Für die Tiere der Gruppe I war die Operation hiermit beendet und es folgte der Verschluss der Wunde (siehe 3.3.5).

Bei den Schafen der Gruppe II allerdings wurden nun an mehreren Stellen jeweils im Abstand von ca. 2 cm zur Spina scapulae insgesamt 3 ml einer öligen Nandrolon Deconate Lösung (Deca-Durabolin<sup>®</sup>, 50 mg/ml Nandrolon Decanoas, ESSEX Chemie AG, Luzern, Schweiz) in den M. infraspinatus appliziert. Weitere 2 ml dieser öligen Nandrolon Deconate Lösung wurden zur Kontrolle an einer Stelle in den M. teres major injiziert und die Injektionsstelle mit 2/0 Supramid markiert.

In der Gruppe III trat an die Stelle des Nandrolons der zweiten Gruppe IGF-I (IGF-I PLGA Mikropartikel, 267 µg, Pharmazeutische Technologie, IBT, ZHAW, Campus Reidbach, 8820 Wädenswil, Schweiz) welches ebenso an mehreren Stellen jeweils im Abstand von 2 cm zur Spina scapulae in den M. infraspinatus appliziert wurde.

Im Anschluss erfolgte nun auch bei den beiden letzten Gruppen der gleiche Wundverschluss wie unter 3.3.5.

### **3.3.7 Refixation**

Bei dieser Operation erfolgte im Anschluss an den Hautschnitt und die Darstellung des M. deltoideus (wie bereits in 3.3.5 und 3.3.6 beschrieben) die Freipräparation des Dehnungsapparates und des Knochenfragmentes inklusive der Infraspinatussehne.

Der Abstand des Knochenchips zum Spannerbügel, die Ausfuhrlänge des Spannerhalses sowie die Distanz von Knochenfragmentmitte bis zur Mitte der alten Osteotomiestelle im T. majus wurden gemessen und notiert.

Durch Öffnen der Öse des Spannerbügelhalses mit Hilfe einer Drahtschneidezange konnte die Verbindung zwischen Spannerbügel und Knochenfragment getrennt werden, ohne die FiberWire zu beschädigen. Es folgte die Explantation des Dehnungsapparates und die biomechanische Messung mit dem speziellen Newtonmeter wie unter 3.3.6.

Nach der Biopsieentnahme aus dem M. infraspinatus und seiner Sehne wurde das Knochenfragment mit den bereits vorhandenen FiberWire durch eine 3,5er Spongiosazugschraube mit Unterlegscheibe an der alten Osteotomiestelle im T. majus refixiert. Der nach Refixation noch bestehende Abstand vom Knochenfragment zum Schraubenkopf im T. majus wurde vermerkt.

Wie bei der Tenotomie und der Implantation erfolgte der Verschluss der Wunde in drei Lagen mit einer Wundabdeckung als Kontaminationsschutz. Im Anschluss an die Operation erfolgte eine computertomographische Untersuchung.

### **3.3.8 Postoperative Versorgung**

Im direkten Anschluss an die Tenotomieoperation und die Implantation des Dehnungsapparates wurden die Tiere in eine Einzelbox mit Sichtkontakt zu Artgenossen transportiert und dort in regelmäßigen Abständen bis zum Aufstehen und der ersten Futteraufnahme vom Anästhesisten kontrolliert.

Am auf die Operation folgenden Tage wurden die Tiere mit einem Transporter des Tierspitals in die MSRU eigenen Stallungen gefahren. Die Unterbringung erfolgte in kleinen Boxen einzeln oder zu zweit. Die Tiere hatten durch Trenngitter hindurch direkten Kontakt zu ihren Artgenossen und Sichtkontakt zu allen anderen Schafen im Stall. Somit konnte auch für die in Einzelboxen gehaltenen Schafe das Herdengefühl aufrechterhalten werden.

Nach der Refixationsoperation wurden die Tiere direkt im Anschluss an das postoperative CT noch in Anästhesie auf einer Trage und bereits in einem zu einem Hängesystem gehörigen Netz in den Tiertransporter des Tierspitals getragen und zu den Stallungen der MSRU gefahren.

Weiterhin auf der Trage liegend, gelangten sie in vorbereitete Einzelboxen, die mit entsprechenden Haken und Vorrichtungen für das Hängesystem ausgestattet waren. Somit wurden die Schafe während der Aufwachphase, zur Erleichterung des Aufstehens und für 28 Tage post operationem mit dem Hängesystem aufgehängt, wie in einer Hängematte liegend, gestützt. Somit waren ein ungehindertes Stehen und Bewegung in geringem Maße möglich, aber ein Hinlegen konnte verhindert werden (Abb. 8).

Diese Maßnahme wurde ergriffen, da sonst während der Aufstehphase und bei freier Bewegung in einer großen Box die Gefahr einer Ruptur der frisch refixierten Sehne zu groß gewesen wäre. Zuvor war den Schafen noch auf dem Operationstisch ein halbiertes Gummiball mit einem Durchmesser von ca. 10 cm mittels eines Verbands unter den Klauen der rechten Vordergliedmaße befestigt worden, damit sie diese nach der Aufwachphase nicht mit ihrem ganzen Körpergewicht belasten konnten.

Der Verband wurde alle 7 Tage gewechselt. Auch in den Einzelhängeboxen war direkter Kontakt zueinander durch die Gitterstäbe hindurch möglich und die Tiere hatten Sichtkontakt zu ihren Nachbarn.

Alle Tiere wurden postoperativ über 5 bzw. nach Implantation des Dehnungsapparates über 7 Tage antibiotisch und analgetisch mit den bereits präoperativ verwendeten Medikamenten versorgt. Die Wundabdeckungen wurden nach 48 Stunden entfernt und die Venenverweilkatheter am letzten Tag der parenteralen Antibiose gezogen. Drei Wochen nach der Operation wurden den Schafen die Fäden gezogen.

Nach der Tenotomieoperation konnten die zu diesem Zeitpunkt nahezu lahmfreien Schafe nach der Entfernung der Fäden wieder auf den Bauernhof im Aargau verbracht werden, wo sie über weitere 13 Wochen auf kleinen Weiden unter täglicher Kontrolle gehalten wurden.

Am Tage nach der Implantation des Dehnungsapparates wurde mit der Dehnung der Sehne begonnen indem der Hebel, der pro Betätigung den Spannerhals um 0.125 mm ausfuhr, einmal pro Tag neunmal gedrückt wurde. Der Hals des Spanners wurde also bis zum Zeitpunkt der Operation zur Refixation des Knochenfragment-Sehnen-Komplexes über 6 Wochen täglich um 1.125 mm weiter ausgefahren und die Sehne somit täglich um diese Strecke gedehnt.

### **3.3.9 Euthanasie**

Vor dem Eingriff wurde eine computertomographische Untersuchung durchgeführt. Daraufhin wurden die Tiere wie bei den vorherigen Prozeduren noch unter Allgemeinanästhesie auf einem Wagen in den Operationssaal geschoben.

Die Operation wurde diesmal nicht unter sterilen Kautelen vorgenommen, da am Ende die Euthanasie der Tiere bevorstand.

Der Hautschnitt wurde wie bei den vorherigen Operationen gesetzt. Ebenso wurde der M. deltoideus und daraufhin das T. majus mit der verwachsenen Sehne des M. infraspinatus unter Nutzung eines Elektrokauters freipräpariert.

Anschließend wurde der Abstand von der Mitte des T. majus zur Mitte des nun zum Teil nur noch rudimentär vorhandenen Knochenfragmentes sowie zum Akromion gemessen.

Um im Weiteren die Kraftmessung durchführen zu können, wurden zunächst die Schrauben, mit denen beim Repair der Knochenfragment-Sehnen-Komplex mittels FiberWire am T. majus fixiert worden war, herausgedreht.



Daraufhin wurde erneut eine Tenotomie durch Osteotomie durchgeführt, allerdings diesmal mit einer oszillierenden Säge. Nach erfolgter Kraftmessung (Fixierung der Sehne geschah mittels eines oder mehrerer FiberWire 2 bzw. 5 in Form einer Maison-Allen-Naht) schloss sich die Muskelbiopsieentnahme an, wobei bei der Anabolikagruppe und bei der IGF-Gruppe sowohl eine Biopsie aus dem Bereich des Muskels, in dem die Applikation der entsprechenden Mittel vorgenommen worden war, als auch eine Biopsie aus einem unbehandelten Bereich des Muskels gewonnen wurde.

Es wurde keine Sehnenbiopsie entnommen, um das spätere Magnetresonanztomographiebild nicht zu beeinträchtigen. Die Entnahme geschah nach Abschluss der Magnetresonanztomographie (MRT).

Zur Wiederherstellung der anatomischen Gegebenheiten für das MRT wurden die Stelle der Muskelbiopsieentnahme und Teile der zuvor präparierten Muskulatur mit nichtresorbierbarem Nahtmaterial verschlossen. Die Hautwunde wurde mit einer fortlaufenden Kirschnernaht vorübergehend verschlossen, so dass das Schaf zur Operation der linken Schulter gedreht werden konnte.

Der Hautschnitt, die Tenotomie der Infraspinatussehne, die Kraftmessung (Fixierung der Sehne mit zwei FiberWire 2, 1x Maison-Allen-Naht, 1x Rucksacknaht) und die Muskelbiopsieentnahme auf der linken Seite entsprachen der Vorgehensweise zum Zeitpunkt der Tenotomie der rechten Seite. Die Entnahme der Sehnenbiopsie fand auch auf dieser Seite erst nach dem MRT statt.

Die anatomischen Gegebenheiten wurden auch hier mit nichtresorbierbarem Nahtmaterial grob wieder hergestellt.

Nach Abschluss der Adaptation wurden die Schafe mit einem Pentobarbital (Esconarkon<sup>®</sup> ad us. vet., 150 mg/kg (0.5 ml/kg) i.v., Streuli Pharma AG, 8730 Uznach, Schweiz) schmerzlos eingeschláfert und die beiden Vordergliedmaßen in ihrer Gesamtheit amputiert, um in der Uniklinik Balgrist mittels MRT untersucht zu werden. Die toten Schafe wurden entweder vom Veterinär-Anatomischen Institut der Universität Zürich zur Lehre der Studenten verwendet oder aber der Tierkörperbeseitigung des Instituts für Veterinärpathologie der Vetsuisse-Fakultät zugeführt.

### **3.4 Bildgebende Verfahren**

#### **3.4.1 Computertomographie**

Zu sechs Zeitpunkten während der Studie wurden computertomographische Aufnahmen von den Schulterpartien der Schafe angefertigt (SOMATOM® Sensation Open, Siemens medical, Siemens AG, Medical Solutions, 91052 Erlangen, Deutschland; Software Version syngo CT 2007S). Wie schon erwähnt, geschah dies zum Zeitpunkt eines jeden operativen Eingriffs und zusätzlich noch zwei sowie vier Wochen nach der Implantation des Dehnungsapparates. Die CTs zum Zeitpunkt der Tenotomie und der Refixation fanden postoperativ statt, die zum Zeitpunkt der Implantation des Dehnungsapparates und der Euthanasie wurden präoperativ durchgeführt.

Zu den Terminen, an denen die CTs postoperativ durchgeführt wurden, wurden die Tiere nach Beendigung der Operation in Anästhesie belassen und in Brust-Bauch-Lage auf einem kleinen Wagen zum CT-Gebäude befördert. Bei den computertomographischen Untersuchungen, die präoperativ oder aber zwischen Implantation und Refixation stattfanden, wurden die Tiere auf einem kleinen Wagen stehend zum CT-Gebäude gefahren und dort dann wie unter Punkt 3.3.3 beschrieben in Anästhesie gelegt. Falls im Anschluss an das CT ein Eingriff durchgeführt wurde, konnten die Tiere in Anästhesie belassen werden und auf einem Wagen in Brust-Bauchlage in den Operationssaal gezogen werden. Schloss sich kein Eingriff an, so wurden die Tiere unter Aufsicht im CT-Gebäude belassen, bis sie wieder wach genug waren, um in die Stallungen transportiert zu werden.

Während aller CTs wurden die Schafe in linker Seitenlage so auf dem CT-Tisch positioniert, dass der Kopf des Tieres in Richtung der CT-Röhre zeigte. Die Vordergliedmaßen lagen sowohl in horizontaler als auch in vertikaler Ebene exakt übereinander. Außerdem wurde genau darauf geachtet, dass beide Spinae scapularum parallel zur Schnittebene positioniert wurden (Abb. 9).

Die CTs zu den Zeitpunkten der operativen Eingriffe wurden genutzt, um mit Hilfe der Bestimmung der Hounsfield Units den Grad der fettigen Infiltration und durch Vermessung des Muskelumfangs den Grad der Atrophie bestimmen zu können.

Die im Zeitraum zwischen der Implantation des Spanners und der Refixation der Sehne stattfindenden CTs wurden durchgeführt, um festzustellen, ob zum Einen der Knochenfragment-Sehnen-Komplex noch intakt war und zum Anderen, wie weit die Spannerhälse schon ausgefahren waren und ob die ausgefahrene Strecke der vorher

berechneten entsprach. War dies nicht der Fall, so wurde die Anzahl der Hebelbetätigungen den gegebenen Umständen entsprechend erhöht oder verringert.

### **3.4.2 Magnetresonanztomographie**

Für die MRT-Aufnahmen wurden die zum Zeitpunkt der Euthanasie amputierten und daraufhin tiefgefrorenen Gliedmaßen der Schafe in das Uniklinikum Balgrist verbracht. Die aufgetauten Gliedmaßen wurden mit der Scapula nach unten und ihrem proximalen Ende nach vorne, also zum MRT-Gerät zeigend, auf den MRT-Tisch gelegt. Bei dem Magnetresonanztomographen handelte es sich um einen Siemens Avanto (1,5 T; Siemens Medical Solutions, Erlangen, Deutschland) mit der Softwareversion VB17. Die Gliedmaßen wurden in einer Mehrkanal-Kniespule gescannt.

Anhand der MRTs konnten der Fiederungswinkel sowie der Durchmesser des Muskels und die Länge der Muskelfasern bestimmt werden.

### **3.5 Sektion**

Im direkten Anschluss an die MRTs wurden sowohl die operierten als auch die kontralateralen Schultern seziert und die einzelnen Mm. infraspinati entnommen, um deren Volumina und Gewichte zu bestimmen. Das Gewicht wurde einmal mit Knochenfragment und einmal ohne Knochenfragment (Knochenfragment wurde hier mit der Hand unterstützt) auf einer elektronischen Waage ermittelt. Zur Volumenbestimmung wurden die ausgelösten Muskeln in einen mit 700 ml vierprozentigem Formalin gefüllten Messbecher gelegt.

Durch das Muskelvolumen verdrängt, stieg das Formalin im Messbecher bis zu einer neuen Marke an. Die Differenz der beiden durch die Formalinsäule bezeichneten, sich im Messbecher befindlichen Einzelvolumina, ergab somit das Volumen des Muskels. Daraufhin wurden die Muskeln in Gänze und in der Mittellinie halbiert mit einer Nikon Kamera (Nikon Digital Camera D5000, © 2009 Nikon Corporation) fotografiert und die letzten Sehnenbiopsien entnommen. Zuletzt wurden die Mm. infraspinati noch einzeln und genau gekennzeichnet zur Aufbewahrung in vierprozentiges Formalin eingelegt. Die Vordergliedmaßen wurden ebenfalls einzeln in Plastiktüten verpackt und genau gekennzeichnet eingefroren.

### **3.6 Probengewinnung und –aufbereitung**

Während eines jeden Eingriffs wurden je eine Muskelbiopsie und eine Sehnenbiopsie vom M. infraspinatus gewonnen. Da die Ergebnisse der Auswertung der Muskelbiopsien in einer Publikation der Uniklinik Balgrist zu gegebener Zeit erörtert werden, wird an dieser Stelle nicht weiter auf sie eingegangen.

Die Sehnenbiopsien wurden direkt nach Entnahme in vierprozentiges Formalin eingelegt und dann zur weiteren Bearbeitung in das Veterinärpathologische Institut der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich gegeben.

Dort wurden eine HE-Färbung, eine Toluidinblau-Färbung und eine Decorin-Färbung angefertigt.

Zur HE-Färbung wurde ein Mediate Tissue Stainer COT 20 genutzt. Gefärbt wurde mit Hematoxylinlösung modifiziert nach Gill II (Merck, Darmstadt, 1.05175.0500) und Eosin-Y w/Phloxine von Richard-Allan Scientific (Distributor Microm International GmbH Germany). Die Schnitte wurden zweimal zwei Minuten im Hemalaun und einmal zwei Minuten im Eosin angefärbt.

Für die Toluidinblauschnitte wurde die Mastzellfärbung nach Unna gewählt.

Die Decorinschnitte wurden angefertigt indem die Gewebestücke erst deparaffinisiert und rehydriert, dann für fünf Minuten in Leitungswasser gewässert und hierauf für weitere zwei Minuten in Hemalaun gegengefärbt wurden. Um die endogene Peroxidase zu inaktivieren, wurden die Schnitte für zehn Minuten bei Raumtemperatur mit 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mit 0,2% NaN<sub>3</sub> (Natriumazid) in Wasser) behandelt. Dann wurde ebenfalls für zehn Minuten bei Raumtemperatur ein Proteinblocker (DAKO X0909) angewendet. Hierauf wurden die Schnitte über 30 Minuten bei 37° C mit 0,2% Hyaluronidase (Sigma H3506330 U/mg) in Wasser aufgeschlossen. Daraufhin wurden die Schnitte über Nacht bei Raumtemperatur mit Rabbit Ant Decorin LF 113 (Mouse; Larry W. Fisher, NIDCR, Bethesda, Maryland) in einer Verdünnung von 1:400 inkubiert. Nun wurde die En Vision (En Vision anti rabbit, DAKO K4003) Methode wie vom Hersteller beschrieben angewendet. Als Chromogen wurde AEC (Aminoethyl Carbazole Substrate Kit, Invitrogen AG, 00-2007) genutzt. Zwischen jedem dieser Schritte wurden die Schnitte gründlich mit PBS (Phosphate Buffer Solution, pH 7,4) abgespült.

Als Negativkontrollen wurden Schnitte ohne primären Antikörper, die aber mit PBS inkubiert worden waren, genutzt. Als Positivkontrolle diente normales Sehnengewebe.

## **3.7 Untersuchungsmethoden und Probenauswertung**

### **3.7.1 Radiologische Auswertung CT**

Für die Auswertung der computertomographischen Aufnahmen wurden die zu den Zeitpunkten Tenotomie (A), Implantation (B), Refixation (C) und Sacrifice (D) gemachten Aufnahmen herangezogen. Zu allen Zeitpunkten wurden sowohl die operierten Schultern als auch die kontralateralen Seiten aller Tiere der drei Gruppen betrachtet. Gemessen wurden jeweils die Retraktion der Infraspinatussehne und die Retraktion der Muskulatur des operierten M. infraspinatus in sagittaler Ansicht sowie die Muskelfläche und die mittlere Anzahl an Hounsfield Units (HU) der Mm. infraspinati der operierten und kontralateralen Seite in sagittaler und coronarer Schnittansicht. Hierzu fand das Programm OsiriX v.3.8 32-bit ©Pixmeo Sarl Verwendung. Zur Veranschaulichung der Messweise wird auf Abb. 10 und Abb. 11 verwiesen. Bei der Auswahl des Schnittbildes wurde auf sagittaler Ebene darauf geachtet, dass möglichst sowohl die Skapula als auch der Muskel in voller Länge gut sichtbar waren und dass sich Op- und kontralaterale Seite so gut wie möglich glichen. Zum Teil war dies nur auf unterschiedlichen Ebenen zu erreichen. Coronar wurde zur Auswertung die erste Schnittebene gewählt, auf der der M. infraspinatus kaudal in seiner Gesamtheit auf dem Schulterblatt lag, der Muskel das Schulterblatt also nicht mehr überragte. Auch hier mussten für die rechte und linke Seite wegen ungenauer Lagerung zum Teil zwei unterschiedliche Ebenen herangezogen werden.

Um die Retraktion der Infraspinatussehne möglichst genau und reproduzierbar feststellen zu können, wurde zuerst auf den CT Bildern des Tenotomiezeitpunktes die Distanz von der Mitte des Glenoids bis zur Mitte der Osteotomiestelle ausgemessen. Auf den CTs der folgenden Op-Zeitpunkte konnte dann die Entfernung von der Mitte des Glenoids bis zur Mitte des Knochenfragments gemessen und von der vorher bestimmten Strecke zwischen Glenoid und Osteotomiestelle abgezogen werden, um die Retraktion zu errechnen. Lag das Knochenfragment kaudal vom Glenoid, so wurde die gemessene Distanz zu der Glenoid-Osteotomiestellen-Strecke hinzu addiert, um die Länge der Retraktion zu erhalten. Ebenso wurde zur Ermittlung der Muskelretraktion verfahren, nur dass in diesem Falle nicht das Knochenfragment, sondern das dorsal am weitesten nach kranial reichende Muskelende als zweiter Messpunkt diente.

Zur Bestimmung der Muskelfläche und der Hounsfield Units wurde der Muskel unter Nutzung des Werkzeugs „geschlossenes Polygon“ des Programms OsiriX v.3.8 32-bit

©Pixmeo Sarl komplett umfahren. Hierbei wurden das Knochenfragment und die ersten 1.5 cm der Sehne allerdings ausgeschlossen, um die HU-Berechnung nicht zu beeinflussen.

Die Ergebnisse der HU-Messung werden zu gegebener Zeit zusammen mit den Ergebnissen der Kraftmessung an anderer Stelle publiziert werden.

An dieser Stelle soll nur auf die Retraktion der Sehne und des Muskels sowie die Muskelfläche eingegangen werden.

### **3.7.2 Radiologische Auswertung MRT**

Da MRT-Aufnahmen der Vordergliedmaßen nur nach der Euthanasie durchgeführt wurden, musste hier nicht zwischen den einzelnen Zeitpunkten unterschieden werden. Es geschah nur eine Differenzierung nach operierter und kontralateraler Seite. Gemessen wurden, wiederum unter Anwendung des Programms OsiriX v.3.8 32-bit ©Pixmeo Sarl, zum einen die Fiederungswinkel der Muskelfasern bei 3 cm, 6 cm, 9 cm und 12 cm kaudal des Glenoids. Wenn diese gut erkenntlich waren erfolgte die Messung sowohl auf der oberflächlichen, also der Haut zugewandten Seite, als auch auf der tiefen, also dem Schulterblatt zugewandten Seite der den Muskel nahezu zentral durchziehenden Sehne.

Zum anderen wurde an möglichst denselben Stellen die Muskelfaserlänge erfasst. Hierzu wurde auf der oberflächlichen Muskelseite der Abstand zwischen Sehne und Faszie im korrekten Winkel und auf der in der Tiefe gelegenen Seite des Muskels der Abstand zwischen Infraspinatus-Sehne und Periost der Skapula im korrekten Winkel gemessen. Des Weiteren wurde an der breitesten Stelle des M. infraspinatus dessen Durchmesser bestimmt.

Abb. 12 dient zur Veranschaulichung der Messweise.

### **3.7.3 Auswertung der Sehnenhistologie**

Sehnenbiopsien wurden, soweit der Zustand der Sehne intraoperativ als gut und nicht zu fragil beurteilt wurde, möglichst zu jedem der Zeitpunkte Tenotomie, Implantation und Repair sowie bei der Sektion nach Sacrifice aus der Sehne des M. infraspinatus der rechten Vordergliedmaße entnommen. Bei der Sektion wurde zusätzlich auch eine Biopsie der Sehne des jeweiligen kontralateralen M. infraspinatus entnommen. Alle aus den Biopsien gefertigten histologischen Schnitte wurden zuerst zur Gewinnung eines Überblicks bei 5- und 10facher Vergrößerung, dann zur Auswertung bei 20facher

Vergrößerung unter einem Mikroskop (Leica® DMR) betrachtet. Zur Auswertung der Sehnenhistologie wurde ein eigenes Wertungssystem verwendet, bei dem bestimmte Punktzahlen je nach untersuchtem Parameter vergeben wurden.

Alle Schnitte wurden von zwei unabhängigen Gutachtern beurteilt. Keinem der Gutachter war anhand der Schnitte der Zeitpunkt der Entnahme oder die Gruppenzugehörigkeit der Schafe ersichtlich.

Beurteilt wurden jeweils die Zellzahl, die Morphologie (Rundung oder „Rounding“) der Zellkerne, die Vaskularität und das Vorhandensein von chondroider Metaplasie sowie die Menge an Proteoglykan und Decorin. Weiterhin wurde auch die Kräuselung („Crimping“) und Ausrichtung der Sehnenfasern („Alignment“) betrachtet. Wobei immer drei möglichst repräsentative Gesichtsfelder in die Auswertung Aufnahme fanden.

Zur Ermittlung der Zellzahl wurden die Gesichtsfelder so eingestellt, dass nach Möglichkeit nur Sehnengewebe, oder aber so wenig anderes Gewebe wie möglich zu sehen war. Dann wurden alle Tenozytenkerne ausgezählt, die sich im Gesichtsfeld befanden. War die Summe der Zellkerne pro Gesichtsfeld in allen drei Gesichtsfeldern größer als 150, so wurden 3 Punkte vergeben, lag die Tenozytenkernzahl zwischen 100 und 150 wurden 2 Punkte vergeben, bei 50 bis 100 Tenozytenkernen gab es einen und bei 0 bis 50 Tenozytenkernen 0 Punkte (Abb. 13 und Tab. 2). Bei der Ermittlung der Zellrundung wurde ähnlich verfahren.

Es wurden ebenfalls 0 bis 3 Punkte vergeben, hier wurde allerdings die Form der Zellkerne, die prozentual am stärksten vertreten war beurteilt. 0 Punkte wurden vergeben, wenn die Masse der Zellkerne eine sehr schmale Form aufwies, 1 Punkt, wenn die Zellkerne eine etwas breitere Form zeigten und 2 Punkte, wenn die Kerne schon recht dick erschienen. Wenn die Zellkerne eine runde dicke Form angenommen hatten, erhielt der Schnitt 3 Punkte. (Abb. 14 und Tab. 3).

Zur Beurteilung der Vaskularität wurden ebenfalls drei repräsentative Gesichtsfelder betrachtet. Alle im Sehnengewebe zu findenden Gefäße wurden gezählt. Gefäße im Bindegewebe des Peritendineums wurden nicht in die Wertung aufgenommen.

War kein Gefäß im Sehnengewebe auffindbar, wurden 0 Punkte vergeben, bei ein bis drei Gefäßen gab es 1 Punkt, bei drei bis sechs gefundenen Gefäßen 2 und bei über sieben Gefäßen 3 Punkte (Tab. 4).

Auch die Beurteilung der chondroiden Metaplasie geschah anhand von drei repräsentativen Gesichtsfeldern. Konnte in diesen kein Bereich mit chondroider

Metaplasie festgestellt werden, wurden 0 Punkte vergeben, bei einem Bereich mit chondroider Metaplasie gab es 1 Punkt, bei zwei Bereichen 2 Punkte und war in drei Bereichen chondroide Metaplasie erkennbar, so wurden 3 Punkte verteilt (Abb. 15).

Die mit Toluidinblau angefärbten Schnitte wurden ausgewertet, indem die Intensität der Anfärbung beurteilt wurde. Entsprechend der Farbstärke wurden die Punkte vergeben. 0 Punkte bei ganz blassen Schnitten, die nahezu keine Anfärbung aufwiesen bis hin zu 3 Punkten bei sehr stark blau bis violett gefärbten Schnitten (Abb. 16).

Bei den Decorin-Schnitten wurde verfahren wie bei den mit Toluidinblau angefärbten Schnitten. Die Wertung geschah nach Intensität der Färbung, wobei die Anzahl der vergebenen Punkte mit der Intensität der Anfärbung anstieg, dabei waren 3 Punkte die höchste zu erreichende Punktzahl (Abb. 17).

Zur Bewertung der Kräuselung der Sehnenfasern wurden die HE-Schnitte unter polarisierendem Licht bei einer 20fachen Vergrößerung betrachtet. Beurteilt wurde die durchschnittliche Wellenlänge der Fasern. Hierzu wurden zwei repräsentative Gesichtsfelder ausgewählt, in denen 10 Sehnenfaserwellen ausgemessen wurden. Hierzu wurden die Gesichtsfelder zuerst mit einer auf das Mikroskop aufgesetzten Kamera (Leica® DFC 320) aufgenommen und dann mit dem Programm ImageAccess Standard (© 1992 – 2010 Imagic Bildverarbeitung AG, CH-8152 Glattbrugg) bearbeitet. Es wurden sowohl Entfernungen von Wellenkamm zu Wellenkamm, als auch von Wellental zu Wellental gemessen. Lagen die Wellenkämme oder -täler weniger als 50 µm auseinander, wurden 3 Punkte vergeben. 50-100 µm ergaben 2 Punkte, 100-150 µm wurden durch 1 Punkt gekennzeichnet und bei 150-200 µm gab es 0 Punkte (Abb. 18, Abb. 19 und Tab. 5).

Um die Ausrichtung der Sehnenfasern beurteilen zu können, wurden die HE-Schnitte sowohl unter dem Lichtmikroskop als auch unter polarisierendem Licht betrachtet.

Bewertet wurde die Parallelität des Faserverlaufs. Die Vergabe der Punkte erfolgte somit nach prozentualem Anteil parallel verlaufender Fasern. Bei 0-25% parallel verlaufender Fasern wurden 3 Punkte gegeben, 25-50% ergaben 2 Punkte, 50-75% wurden mit 1 Punkt beziffert und Schnitte mit 75-100% paralleler Fasern erhielten 0 Punkte (Tab.6).



#### **3.7.4 Auswertung der Kraftmessung (Blix-Kurve)**

Die Ergebnisse der Kraftmessung werden zu gegebener Zeit in einer Publikation des Universitätsklinikums Balgrist zu finden sein.

#### **3.7.5 Volumina und Gewichte der Mm. infraspinati**

Zum Zeitpunkt der Sektion (nach Euthanasie und abgeschlossenem MRT) wurden die Mm. infraspinati entnommen und auf einer elektronischen Waage gewogen. Zum einen wurde so das Komplettgewicht der Muskeln einschließlich Knochenchip ermittelt, zum anderen wurden die Muskeln mit gleichzeitiger Unterstützung des Knochenchips gewogen, so dass annähernd nur das reine Muskelgewicht erfasst wurde.

Im Anschluss wurden die Muskeln zur Volumenbestimmung in einen 1500 ml fassenden mit 700 ml Formalin (4%) gefüllten Messbecher gegeben. Der Füllunterschied wurde als Volumen festgehalten.

#### **3.7.6 Körpergewicht der Schafe zu den jeweiligen Zeitpunkten der einzelnen Eingriffe**

Ein bis zwei Tage vor einer jeden Operation wurden alle Schafe auf einer Dezimalwaage gewogen und die Gewichte wurden schriftlich festgehalten.

#### **3.7.7 Statistik**

Zur statistischen Analyse der Daten fand das Programm SPSS Base für Mac OS X, Version 18.0, Chicago, Illinois Verwendung.

Sowohl mit den quantitativen Ergebnissen der CT- und der MRT-Auswertung als auch mit den semiquantitativen Daten der Histologieauswertung wurde eine faktorielle Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. So konnten die Mittelwerte und Standardabweichungen ermittelt werden. Die Auswertung in Bezug auf statistischen Signifikanzen erfolgte mit einem Post Hoc Tests nach Scheffe und Bonferroni. Innerhalb einer Gruppe wurde dafür ein ungepaarter T-Test verwendet. Als statistisch signifikant galten p-Werte  $< 0.05$ .

Korrelationen wurden anhand der Auswertung nach Pearson ermittelt.

## 4 Resultate

### 4.1 Operationen und postoperative Phase

Die Tenotomie der Sehne des M. Infraspinatus verlief bei 19 von 20 Tieren komplikationslos. Nur bei Schaf 2235 wurde ein zu großes Knochenfragment ausgelöst und damit einhergehend die Schultergelenkscapsel verletzt. Der untere Teil des zu großen Knochenfragments wurde mit dem Piezosurgery-Gerät abgetrennt und an seinem Ursprungsort mit zwei 40 mm langen, 3,5er Kortikalisschrauben refixiert. Um die Refixation des kleinen Knochenfragmentanteils nicht zu gefährden, wurde dieses Schaf über den gesamten Zeitraum bis zur Implantation des Dehnungsapparates in strenger Boxenruhe gehalten. Postoperativ waren bei wenigen Tieren kleine Serome im Bereich des Operationsfeldes an der rechten Schulter festzustellen, die sich aber nach einigen Tagen wieder zurückbildeten.

Bei der Implantation des Dehnungsapparates gab es ebenso keine Zwischenfälle. Alle Knochenfragmente konnten mit Hilfe der Penrose Drainage eindeutig identifiziert und gut freipräpariert werden.

In der darauf folgenden Muskeldehnungsphase, wurden bei der als erstes operierten Gruppe I zwei Umstände ersichtlich, die das kontrollierte Ausfahren des Dehnungsapparathalses erschwerten. Zum einen wurde die Betätigung des Ausfuhrhebels bei manchen Schafen mit der Zeit schwieriger, da dieser zunehmend von narbigem Bindegewebe umwachsen wurde, welches eine Blockade des Druckmechanismus verursachte. Zum anderen war der Hals des Dehnungsapparates oftmals schneller bis zu einer bestimmten Länge ausgefahren, als nach der Betätigungszahl des Hebels theoretisch berechnet. Dies lässt darauf schließen, dass der Hebel auch auf andere Art und Weise, wie zum Beispiel durch Reiben an der Boxenwand, betätigt werden konnte. Oder aber, dass die Bindegewebstasche, die sich während der Dehnungsphase um den Spannerhebel gelegt hat, mit dem M. supraspinatus verbunden war und somit bei jeder Kontraktion dieses Muskels den Hebel minimal bewegt und den Hals des Dehnungsapparates dementsprechend minimal ausgefahren hat.

Um die Einwirkung von diesen unkontrollierbaren äußeren Einflüssen auf den Hebel möglichst zu verhindern und einen moderaten Schutz vor dem Einwachsen des Hebels

in das umgebende Bindegewebe zu gewährleisten, wurde ein Ausfuhrhebelschutz entwickelt, der bei den darauffolgenden Operationen zum Zeitpunkt der Implantation und während der Revisionen der Schafe 2221 und 2226 zusätzlich eingesetzt wurde (Abb. 3).

Die Fortschritte in der Ausfuhrlänge des Dehnungsapparathalses wurden anhand von CT-Aufnahmen im Abstand von zwei Wochen überwacht. Danach wurde die Anzahl der Betätigungen der Ausfuhrhebel diesen Strecken angepasst. War ein Dehnungsapparat zu weit ausgefahren, wurde der Hebel pro Tag weniger oft betätigt, war er nicht so weit ausgefahren, wie berechnet, wurde der Ausfuhrhebel häufiger als vorher gedrückt.

Zusätzlich konnten auf den CTs auch die Intaktheit des Knochenfragment-Sehnen-Komplexes und des Dehnungsapparates selber kontrolliert werden.

Bei insgesamt sieben Schafen konnte so festgestellt werden, dass eine Revision erfolgen musste. Von diesen sieben Schafen gehörten drei zur Gruppe I (2221, 2224, 2226) und je zwei zu den Gruppen II (2229, 2239) und III (2233, 2238).

Bei allen drei Tieren der Gruppe I und einem der Gruppe II (2229) wurde schon beim ersten CT ersichtlich, dass sie erneut operiert werden mussten. So war bei Schaf 2226 der Hals des Dehnungsapparates im Scharnier gebrochen und musste ersetzt werden und bei den Schafen 2221, 2224 und 2229 war ersichtlich, dass das jeweilige Knochenfragmente weit vom Ende des Dehnungsapparates entfernt lag. Wie sich bei den Revisionen herausstellte, waren bei 2221 und 2229 die FiberWire aus dem Knochenfragment ausgerissen und bei 2224 die Sehne des M. infraspinatus direkt hinter dem Knochenfragment abgerissen. Die ausgerissenen FiberWire von 2221 und 2229 konnten ersetzt werden. Da das Knochenfragment zur sicheren Fixierung der Sehne am Dehnungsapparat benötigt wurde, konnte die Sehne von Schaf 2224 bei der Revision allerdings nicht wieder am Dehnungsapparat befestigt werden. Das Schaf wurde fortan als Tier mit über den gesamten Zeitraum der Studie retrahierter Sehne geführt und der Dehnungsapparat explantiert. Bei Tier 2221 und 2226 wurden während der Revision zusätzlich, wie weiter oben erwähnt, die neu entwickelten Ausfuhrhebelschutzbügel implantiert.

Das zweite Schaf der Gruppe II (2239) und beide Tiere der Gruppe III (2233, 2238) wurden erst nach dem zweiten CT einer Revision unterzogen. Es waren bei allen dreien die Hälse der Dehnungsapparate im Scharnier gebrochen und mussten ersetzt werden.

Während der Operation zur Refixation des Knochenfragment-Sehnen-Komplexes wurde ersichtlich, dass die Ausfuhrhebel tatsächlich stark von narbigem Bindegewebe umwachsen waren. Zum Teil hatte sich eine richtige Bindegewebstasche um die Hebel gebildet. Bei den Schafen, bei denen der Ausfuhrhebelschutzbügel mit implantiert worden war, war dieser vollkommen mit narbigem Bindegewebe ausgefüllt und umgeben, so dass der Ausfuhrhebel zum Teil nicht mehr zu bewegen war.

Weiterhin war bei zwei Tieren (2222, 2229) während der Freipräparation festzustellen, dass die Sehne direkt hinter dem Knochenfragment von diesem abgerissen war. Allerdings konnte eine Refixation in situ also ohne Knochenfragment nur bei Schaf 2229 versucht werden, da der Sehnenstumpf der 2222 zu wenig Material für einen Refixationsversuch aufwies. Bei weiteren zwei Tieren rupturierte die Sehne während der Freipräparation, so dass auch hier Refixationen der Sehne ohne Fragment durchgeführt wurden (2223, 2231). Diese vier soeben genannten Tiere (2222, 2223, 2229, 2231) wurden somit später in der Gruppe der nicht erfolgreich refixierten Tiere geführt.

Die Refixationsoperation des Tieres 2234 wurde fünf Tage vor dem eigentlich geplanten dritten Operationstermin durchgeführt, da der Hals des Dehnungsapparates im Scharnier gebrochen war und mit seiner scharfen Bruchkante die Haut durchstoßen hatte.

Die ersten vier Wochen nach der Refixationsoperation verbrachten die Tiere in einem Hängesystem mit einem Stützverband und unter den Klauen fixiertem Unterklauenball an der rechten Vordergliedmaße (Abb. 8). Das System und der Verband wurden von den Schafen gut toleriert. Auftretende Scheuerstellen wurden abgepolstert und mit Salben behandelt.

Am Tag der Euthanasie wurde folgendes Bild nach Freipräparation der Knochenfragment-Sehnen-Komplexe ersichtlich:

Nachdem schon am Tage der Refixationsoperation zwei Schafe der Kontrollgruppe (2222, 2224) als fehlgeschlagene Refixationen eingestuft worden waren, wurden diesen noch weitere vier Tiere, eines aus der Kontrollgruppe und drei aus der Nandrolongruppe, hinzugefügt (2223, 2229, 2230, 2231), da sich die FiberWire nicht mehr unter Spannung befanden und die Knochenfragmente bzw. im Falle der Schafe 2223 und 2231 der während der Refixationsoperation eingesetzte, das Sehnenende

markierende Metallclip weiter von ihrem Ursprungsort im T. majus entfernt lagen, als direkt nach der Refixation.

Bei vier Tieren der Kontrollgruppe (2221, 2225, 2226, 2240), vier Tieren der Nandrolongruppe (2227, 2228, 2232, 2239) und sechs Tieren der IGF-Gruppe (2233, 2234, 2235, 2236, 2237, 2238) waren die Knochenfragment-Sehnen-Komplexe intakt und über straffe FiberWire fest mit dem T. majus verwachsen. Bei der folgenden Betrachtung der weiteren Resultate wird für die Kontrollgruppe und die Nandrolongruppe nun also zusätzlich auch zwischen den Untergruppen mit erfolgreicher und nicht erfolgreicher Refixation unterschieden werden.

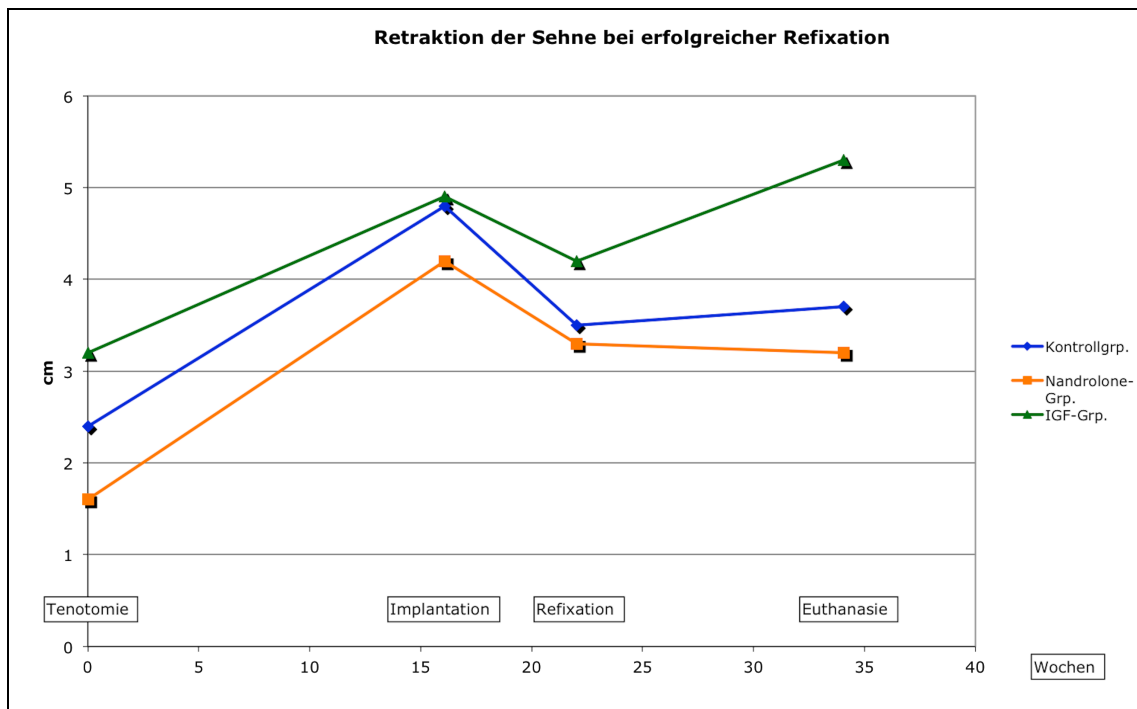
## 4.2 Radiologische Auswertung

### 4.2.1 CT

Zur Veranschaulichung der im Folgenden dargelegten Ergebnisse dienen die Graphiken A bis D sowie die Tab. 7-14 im Anhang. Die Auswertung geschah getrennt nach Tieren mit erfolgreicher Refixation und Tieren, bei denen die Refixation der Muskel-Sehnen-Einheit nicht von Erfolg gekrönt war. Somit werden die Erörterungen der Ergebnisse nun ebenso getrennt erfolgen.

Bei der Betrachtung der Retraktion der Sehnen (Graphik A) der einzelnen, erfolgreich refixierten Mm. infraspinati, konnte bis zum Zeitpunkt der Refixation ein bei allen Gruppen in etwa gleicher Verlauf festgestellt werden. Auf dem nach der Tenotomie erfolgten CT war zu erkennen, dass die frisch osteotomierten Knochenfragmente in einer Entfernung von ca. 1.5 cm (Nandrolongruppe), 2.5 cm (Kontrollgruppe) und ca. 3 cm (IGF-Gruppe) kaudal vom ursprünglichen Osteotomie-Ort am Tuberculum majus lagen. Zum Zeitpunkt der Implantation des Dehnungsapparates hatten sich alle Infraspinatussehnen und somit auch die Knochenfragmente der drei Gruppen bis auf etwa 4 cm bis 5 cm kaudal der alten Osteotomie-Stelle zurückgezogen.

Auf den CTs, die am Tage der Refixationsoperation angefertigt wurden, ist zu sehen, dass die Infraspinatussehnen der Tiere aus der Kontrollgruppe im Mittel 1.3 cm, die der Schafe der Nandrolongruppe 0.9 cm und die der IGF-Schafe 0.7 cm verlängert worden waren, da sich die Knochenfragmente zu diesem Zeitpunkt in einer Entfernung von 3.5 cm (Kontrollgruppe), 3.3 cm (Nandrolongruppe), und 4.2 cm (IGF-Gruppe) zum alten Osteotomiepunkt befanden.



**Graphik A: Retraktion der Sehne im Verlauf über die Zeit. Graphik bezieht sich nur auf die erfolgreich durchgeführten Refixationen**

Bis zu diesem Zeitpunkt war zwischen den Gruppen dementsprechend ein maximaler Unterschied von 1.6 cm, wenn man nur Implantation- und Refixationszeitpunkt betrachtet, sogar nur von 0.9 cm festzustellen.

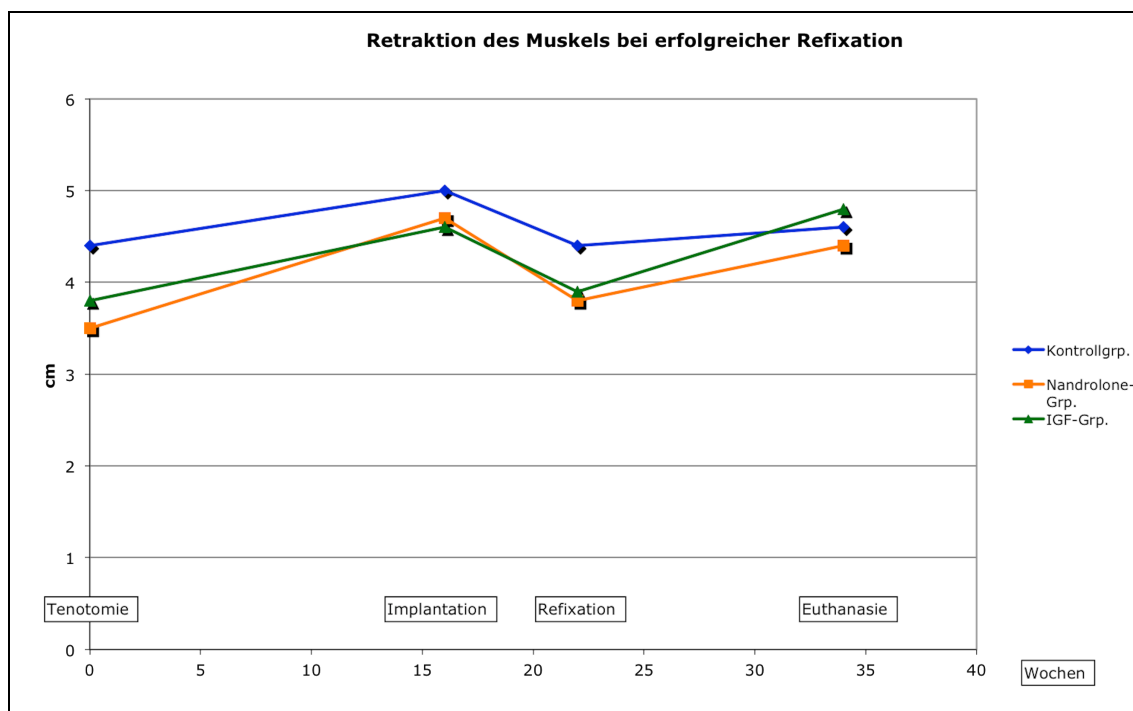
Auf den Euthanasie-CTs betrug der Abstand von den Knochenfragmenten zu den Osteotomie-Stellen bei der Kontrollgruppe im Mittel 3.7 cm, bei der Nandrolongruppe 3.2 cm und bei der IGF-Gruppe 5.3 cm. Somit sind die Abstände in der Kontroll- und der Nandrolongruppe im Vergleich zum Refixationszeitpunkt nahezu gleich geblieben. In der IGF-Gruppe allerdings vergrößerte sich die Entfernung im Mittel um 1.1 cm. Wurden die Differenzen der Gruppen untereinander betrachtet, so konnten nun 0.5 cm Unterschied zwischen Kontroll- und Nandrolongruppe, 1.6 cm Unterschied zwischen Kontroll- und IGF-Gruppe und 2.1 cm Unterschied zwischen Nandrolon- und IGF-Gruppe errechnet werden.

Statistisch signifikante Unterschiede ergaben sich bei der Betrachtung dieser Resultate nur innerhalb der IGF-Gruppe. In dieser Gruppe waren die Differenzen der Abstände der Knochenfragmente zu den entsprechenden Osteotomiestellen zu den einzelnen Zeitpunkten statistisch signifikant. So ergab sich für den unterschiedlichen Abstand zwischen Tenotomie und Implantation ein p-Wert von 0.001, der Unterschied zwischen Tenotomie und Refixation lag bei einem p-Wert von 0.049 und der p-Wert für die verschiedenen Knochenfragmentdistanzen zwischen Tenotomie und Euthanasie betrug

0.000. Auch der Unterschied zwischen den Fragment-Osteotomiepunkt-Entfernungen zwischen Refixationszeitpunkt und Euthanasiezeitpunkt erreichte statistische Signifikanz mit  $p=0.031$ .

Der Verlauf der Muskelretraktion (Graphik B) war dem der Knochenfragment-Sehnenretraktion ähnlich. Vom Tenotomie Zeitpunkt zum Implantationszeitpunkt zogen sich die Mm. infraspinati im Mittel von 4.4 cm auf 5 cm (Kontrollgruppe), 3.5 cm auf 4.7 cm (Nandrolongruppe) und von 3.8 cm auf 4.6 cm (IGF-Gruppe) zurück. Während der Dehnungsphase konnten sie wieder auf einen Abstand von 4.4 cm (Kontrollgruppe), 3.8 cm (Nandrolongruppe) und 3.9 cm zur Osteotomiestelle gebracht werden. Diese Entfernungen entsprachen bei allen Gruppen den Ausgangswerten zum Zeitpunkt der Tenotomie.

Auf den am Tage der Euthanasie durchgeführten CTs ist erkennbar, dass sich die Entfernung der Muskeln zu diesem Zeitpunkt in der Kontrollgruppe nur geringfügig auf 4.6 cm vergrößert hatte. In der Nandrolongruppe war der mittlere Abstand um 0.6 cm auf 4.4 cm gewachsen und in der IGF-Gruppe waren die Muskeln mit 4.8 cm im Durchschnitt 0.9 cm weiter von der Osteotomiestelle entfernt als zum Refixationszeitpunkt.



**Graphik B: Retraktion des Muskels im Verlauf über die Zeit. Die Graphik bezieht sich nur auf die erfolgreich durchgeführten Refixationen**

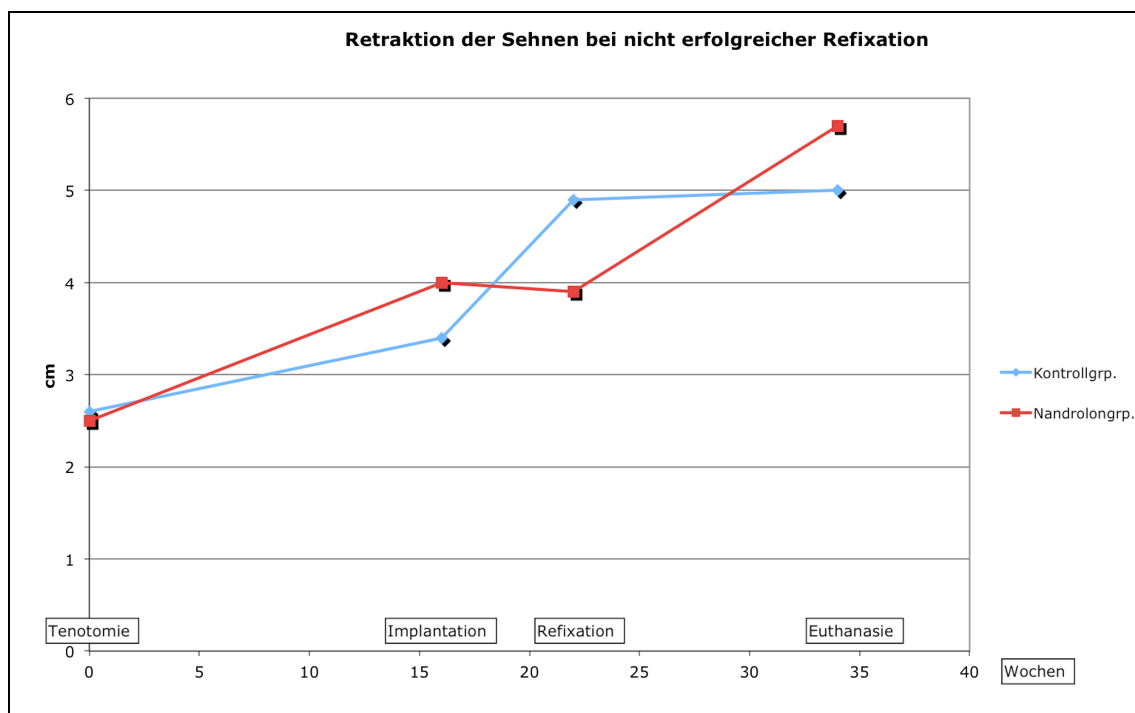
Die Veränderungen der Muskelfläche in cm<sup>2</sup> waren dem Verlauf nach im sagittalen und coronaren Schnittbild sehr ähnlich. Die genauen Zahlen sind in Tab. 9 und Tab. 10 dargestellt. Zwischen Tenotomie- und Implantationszeitpunkt erfolgte sowohl sagittal als auch coronar eine deutliche Flächenabnahme um 26% bis 30% in allen drei Gruppen. Die sagittalen Muskelflächen blieben daraufhin in der Kontrollgruppe bis zum Refixationstermin gleich groß, wobei in der Nandrolon- und IGF-Gruppe sogar ein leichter Muskelflächenzugewinn zu verzeichnen war. Die coronare Muskelfläche nahm hingegen in diesem Zeitraum in allen drei Gruppen leicht ab. Bis zur Euthanasie war sagittal bei den Muskeln der Kontroll- und Nandrolongruppe und coronar bei denen aller drei Gruppen ein weiterer leichter Flächenzugewinn festzustellen. Die sagittale Muskelfläche der IGF-Gruppe nahm geringfügig ab. Statistische Signifikanzen waren für die Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten innerhalb der Gruppen sowohl in der Kontroll-, als auch in der IGF-Gruppe ersichtlich. So wurde in der Kontrollgruppe für die sagittalen Muskelflächen zwischen Tenotomiezeitpunkt und Implantationszeitpunkt ein p-Wert von 0.005, zwischen Tenotomiezeitpunkt und Refixationszeitpunkt ein p-Wert von 0.004, sowie zwischen Tenotomiezeitpunkt und Euthanasiezeitpunkt ein p-Wert von 0.012 erreicht. Coronar wurden für die gleichen Vergleichszeitpunkte p-Werte von p=0.012, p=0.002 und p=0.049 errechnet. In der IGF-Gruppe war der Unterschied zwischen den sagittalen bzw. coronaren Muskelflächen des Tenotomiezeitpunktes und des Implantationszeitpunktes mit p=0.001 statistisch signifikant, ebenso wie der Unterschied der Flächen von Tenotomie- zu Refixationszeitpunkt mit p=0.01 bzw. p<0.0001 und der Unterschied der Fläche von Tenotomie- zu Euthanasiezeitpunkt mit p=0.001 bzw. 0.002.

Bei der Muskulatur der kontralateralen Seiten, waren über den gesamten Zeitraum, mit Ausnahme kleinerer Schwankungen, keine Unterschiede in der sagittalen oder coronaren Muskelfläche festzustellen.

Wird der Verlauf der Sehnenretraktion der nicht erfolgreich refixierten Mm. infrapinati betrachtet (Graphik C), so wird deutlich, dass die Retraktion bei diesen im Unterschied zu den erfolgreich refixierten Muskeln stetig voranschritt. Begannen die Messwerte bei diesen Muskeln der Kontroll- und Nandrolongruppe zum Zeitpunkt der Tenotomie mit Mittelwerten von 2.5 cm, so waren die Abstände von den Knochenfragmenten zu den Osteotomiestellen zum Zeitpunkt der Implantation des Dehnungsapparates in der Kontrollgruppe 3.4 cm und in der Nandrolongruppe 4 cm groß. Hierauf wuchs der Abstand in der Kontrollgruppe bis zum Zeitpunkt der Refixation weiter bis auf



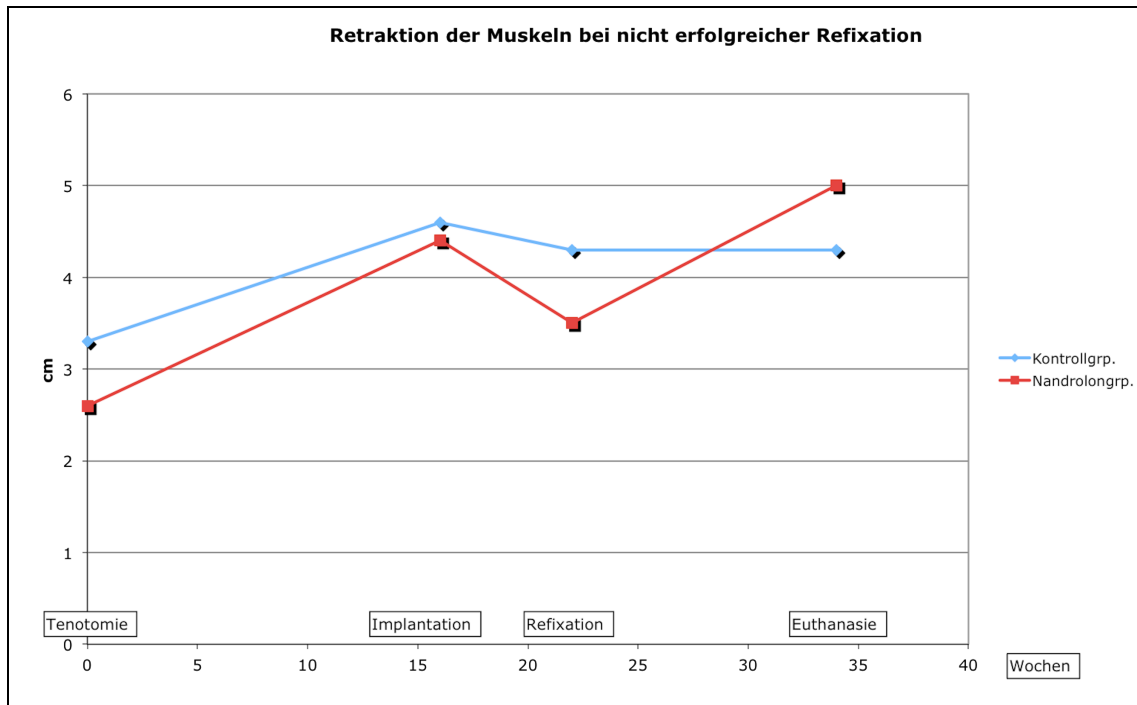
durchschnittlich 4.9 cm an. In der Nandrolonggruppe verringerte sich der Abstand in diesem Zeitraum um 0.1 cm auf 3.9 cm. Daraufhin vergrößerte sich dieser in beiden Gruppen weiter bis auf 5 cm in der Kontrollgruppe und 5.7 cm in der Nandrolonggruppe. Statistisch signifikant waren bei diesen nicht erfolgreich refixierten Muskeln die Unterschiede zwischen den Messwerten des Tenotomie- und Refixationszeitpunkts ( $p=0.045$ ) sowie zwischen den Messwerten des Tenotomie- und des Euthanasiezeitpunkts ( $p=0.037$ ) in der Kontrollgruppe. In der Nandrolonggruppe erreichte nur der Unterschied zwischen den Abständen zum Tenotomiezeitpunkt und den Abständen zum Euthanasiezeitpunkt statistische Signifikanz ( $p=0.026$ ).



**Graphik C: Retraktion der Sehne im Verlauf über die Zeit. Graphik bezieht sich nur auf die nicht erfolgreich durchgeführten Refixationen**

Die Retraktion der nicht erfolgreich refixierten Muskeln verlief ähnlich (Graphik D). Vom Zeitpunkt der Tenotomie bis zum Zeitpunkt der Implantation vergrößerte sich der durchschnittliche Abstand zur Osteotomiestelle in der Kontrollgruppe von 3.3 cm auf 4.6 cm und in der Nandrolongruppe von 2.6 cm auf 4.4 cm. Während der Dehnungsphase verringerte sich der mittlere Abstand in der Kontrollgruppe auf 4.3 cm und in der Nandrolongruppe auf 3.5 cm. Zum Euthanasiezeitpunkt war in der Kontrollgruppe keine weitere Veränderung des Abstands festzustellen, in der Nandrolongruppe allerdings stieg der Abstand im Mittel wieder bis auf 5 cm an.

Eine statistische Signifikanz ergab sich für den Unterschied zwischen dem Abstand zum Tenotomiezeitpunkt und dem Abstand zum Euthanasiezeitpunkt ( $p=0.042$ ) in der Nandrolongruppe.



**Graphik D: Retraktion des Muskels im Verlauf über die Zeit. Die Graphik bezieht sich nur auf die nicht erfolgreich durchgeführten Refixationen**

Sowohl die sagittale als auch die coronare Muskelfläche der nicht erfolgreich refixierten Muskeln nahm vom Tenotomiezeitpunkt (sagittal ca.  $30 \text{ cm}^2$ , coronar ca.  $12 \text{ cm}^2$ ) über den Implantationszeitpunkt (sagittal/coronar Kontrollgruppe:  $27 \text{ cm}^2 / 9 \text{ cm}^2$ , Nandrolongruppe:  $22 \text{ cm}^2 / 8 \text{ cm}^2$ ) bis zum Refixationszeitpunkt hin ab (sagittal/coronar Kontrollgruppe:  $21 \text{ cm}^2 / 8 \text{ cm}^2$ , Nandrolongruppe:  $22 \text{ cm}^2 / 7 \text{ cm}^2$ ).

Daraufhin war in den zwei Gruppen für beide Schnittflächen eine gleich bleibende Muskelfläche oder geringfügige Muskelflächenvergrößerung zu erkennen. In der Kontrollgruppe nahm die Fläche bis auf  $24 \text{ cm}^2$  sagittal und fast  $9 \text{ cm}^2$  coronar zu, die Muskelflächen der Nandrolongruppe blieb sagittal gleich und nahm coronar im Schnitt bis auf  $8 \text{ cm}^2$  zu.

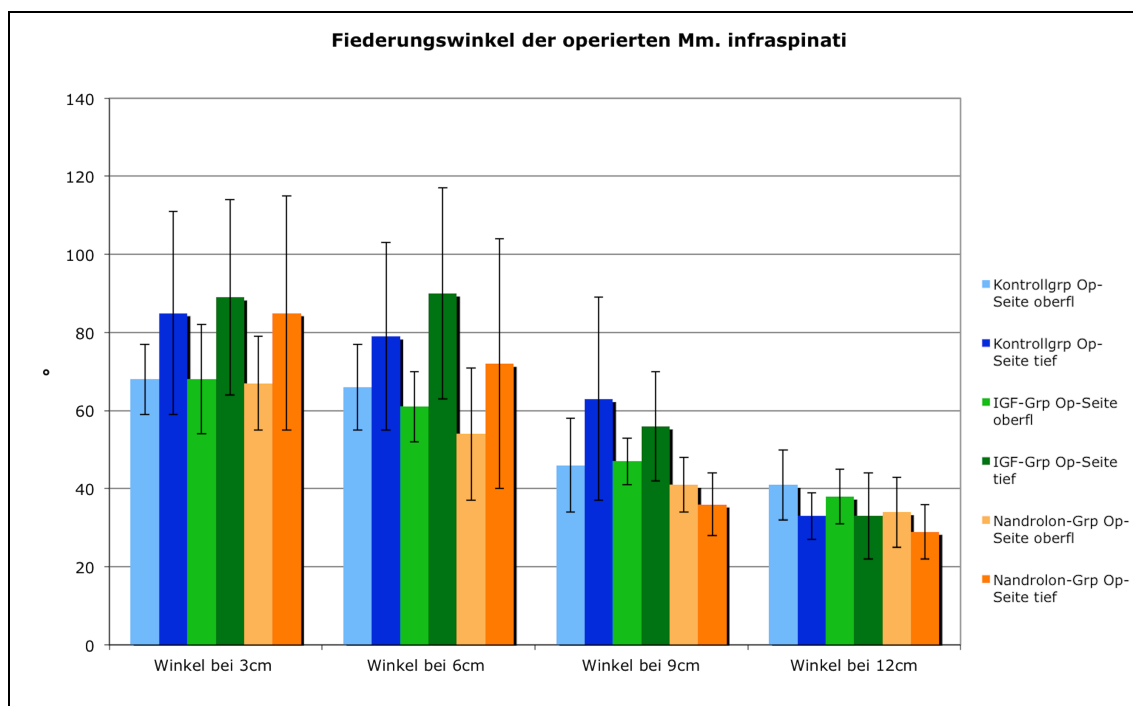
Statistisch bedeutete dies in der Kontrollgruppe signifikante Unterschiede im coronaren Schnittbild zwischen den Muskelflächen zum Tenotomiezeitpunkt und den anderen drei Zeitpunkten ( $p$ -Werte zwischen 0.001 und 0.007). In der Nandrolongruppe konnten die Unterschiede in der Muskelfläche zwischen Tenotomie- und Implantationszeitpunkt

( $p=0.042$ ) sowie zwischen Tenotomie- und Refixationszeitpunkt ( $p=0.029$ ) als statistisch signifikant bezeichnet werden.

#### 4.2.2 MRT

Die Tab. 15-18 im Anhang dienen zur Darstellung der genauen Ergebnisse der via MRT erfolgten Auswertung der Fiederungswinkel und der Muskelfaserlängen der Mm. infraspinati. Auch hier werden wiederum die Erörterungen der Ergebnisse getrennt nach erfolgreichen und fehlgeschlagenen Refixationen erfolgen.

In der Übersichtsdarstellung (Graphik E und Graphik F) ist zu erkennen, dass die Fiederungswinkel der operierten Mm. infraspinati der Tiere mit erfolgreich refixierten Muskeln von kranial (glenoid-nah) nach kaudal (glenoid-fern) kleiner wurden.



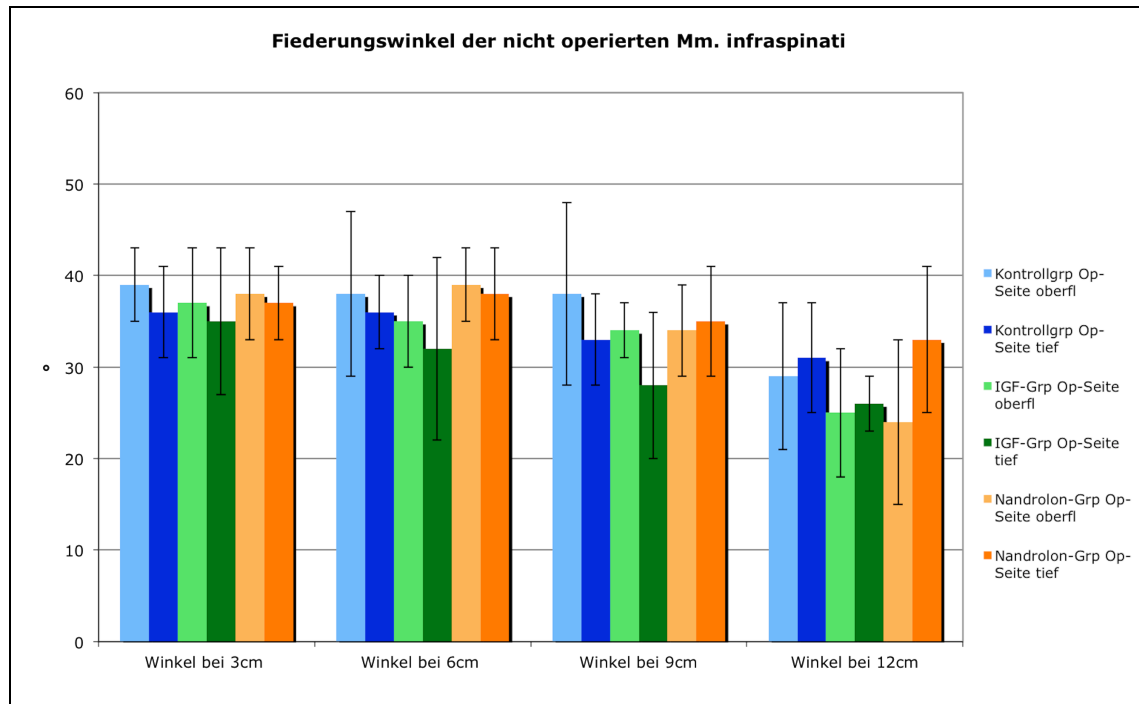
**Graphik E: Fiederungswinkel der operierten Mm. infraspinati in 3, 6, 9 und 12 cm Entfernung zum Glenoid. Abgebildet sind jeweils die oberflächlichen und die tiefen Fiederungswinkel**

So wiesen die Mittelwerte der Fiederungswinkel der drei Gruppen auf der Höhe von 3 cm kaudal des Glenoids oberflächlich eine Größe zwischen 59° und 71° und tief eine Größe zwischen 76° und 89° auf. 6 cm entfernt vom Glenoid betrugen sie oberflächlich zwischen 50° und 65° und in der Tiefe zwischen 60° und 90°.

Bei einer Entfernung von 9 cm konnten Werte zwischen 40° und 47° für oberflächliche Fiederungswinkel und zwischen 35° und 62° für tiefe Fiederungswinkel gemessen werden. Größen zwischen 30° und 45° waren oberflächlich bei einer Entfernung von

12 cm zum Glenoid festzustellen, in der Tiefe konnten an dieser Stelle Winkel zwischen 27° und 35° ermittelt werden.

Im Vergleich zu den kontralateralen Seiten ergab sich somit für die einzelnen Gruppen folgendes Bild:



**Graphik F: Fiederungswinkel der nicht operierten Mm. infraspinati in 3, 6, 9 und 12 cm Entfernung zum Glenoid. Abgebildet sind jeweils die oberflächlichen und die tiefen Fiederungswinkel**

Bei der 3 cm-Marke lagen die Mittelwerte der oberflächlichen Winkel des kontralateralen Muskels bei 34° (Kontrollgruppe), 22° (Nandrolongruppe) und 31° (IGF-Gruppe), die der in der Tiefe gelegenen Winkel 41° (Kontrollgruppe), 38° (Nandrolongruppe) und 54° (IGF-Gruppe) unterhalb der bei den operierten Muskeln gemessenen Werte. Dies ergab für die oberflächlichen Fiederungswinkel aller drei Gruppen statistisch signifikante Unterschiede mit Werten zwischen  $p=0.001$  (Kontroll- und IGF-Gruppe) und  $p=0.003$  (Nandrolongruppe). Bei den tiefen Fiederungswinkeln waren nur die Unterschiede in der Kontroll- sowie der IGF-Gruppe mit  $p=0.044$  bzw.  $p=0.001$  als statistisch signifikant zu bezeichnen.

Bei 6 cm entfernt vom Glenoid wurden für die Kontrollseiten oberflächlich Werte von 25° (Kontrollgruppe), 10° (Nandrolongruppe) und 26° (IGF-Gruppe) und tief Werte von 38° (Kontrollgruppe), 20° (Nandrolongruppe) und 58° (IGF-Gruppe) unterhalb der am operierten Muskel auf dieser Höhe gemessenen Gradzahlen aufgezeichnet.

Für die oberflächlichen Winkel der Kontrollgruppe ( $p=0.007$ ) und der IGF-Gruppe ( $p<0.0001$ ) sowie die tiefen Winkeln der IGF-Gruppe ( $p=0.001$ ) konnte also von als statistisch signifikant zu beurteilenden Unterschieden gesprochen werden. Eine deutliche Tendenz ( $p=0.058$ ) war für die tiefen Fiederungswinkel der Kontrollgruppe zu erkennen.

Die bei 9 cm auf der kontralateralen Seite ermittelten Werte lagen zur Körperoberfläche hin  $5^\circ$  (Kontrollgruppe),  $7^\circ$  (Nandrolongruppe) und  $13^\circ$  (IGF-Gruppe) sowie nahe der Skapula  $28^\circ$  (Kontroll- und IGF-Gruppe) und  $1^\circ$  (Nandrolongruppe) niedriger als die der Op-Seite. Somit zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede auf dieser Höhe nur zwischen den oberflächlichen ( $p=0.001$ ) sowie tiefen ( $p=0.003$ ) Fiederungswinkeln der IGF-Gruppe.

An der 12 cm Marke näherten sich die Mittelwerte der operierten Seite denen der Kontrollseite oberflächlich auf  $17^\circ$  (Kontrollgruppe),  $5^\circ$  (Nandrolongruppe) und  $13^\circ$  (IGF-Gruppe), sowie in der Tiefe bis auf  $4^\circ$  (Kontrollgruppe) und  $7^\circ$  (IGF-Gruppe) an. Die Fiederungswinkel der operierten Muskeln der Nandrolongruppe waren im Mittel an dieser Stelle sogar um  $7^\circ$  kleiner als die der Kontrollseiten. Statistisch signifikante Unterschiede konnten hier somit nur bei den oberflächlichen Fiederungswinkeln der IGF-Gruppe ( $p=0.007$ ) festgestellt werden.

Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht zu ermitteln.

Bei der Betrachtung der Muskelfaserlängen war festzustellen, dass die Mittelwerte aller gemessenen Muskelfasern der operierten Seiten ungefähr eine Länge zwischen 0.8 und 1.3 cm mit unterschiedlich großen Standardabweichungen aufwiesen (Tab. 16). Wobei die Muskelfasern der Mm. infraspinati der Nandrolongruppe bei den 9- und 12 cm-Messpunkten länger waren, als die der anderen beiden Gruppen. In 3 cm Entfernung zum Glenoid wiesen oberflächlich die Muskelfasern der Kontrollgruppe die größte Länge auf, in der Tiefe befanden sich die mittleren Faserlängen aller Gruppen auf einem Niveau, ebenso waren die tiefen Muskelfasern der drei Gruppen bei 6 cm gleich lang. Die oberflächlichen Faserlängen an diesem Messpunkt glichen sich in der Kontroll- und der Nandrolongruppe. Die Fasern der IGF-Gruppe waren an dieser Stelle im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen kürzer.

An den 9 und 12 cm Marken wiesen die Muskeln der Kontrollgruppe und der IGF-Gruppe die gleiche Muskelfaserlänge auf.

Die Muskelfaserlängen der Muskeln der nicht operierten Seiten lagen alle etwa zwischen 1.1 und 1.9 cm.

So war zwischen der operierten und kontralateralen Seite bei der Kontrollgruppe am 3 cm Messpunkt eine Differenz von 0.7 cm oberflächlich und 0.8 cm in der Tiefe gegeben. In der Tiefe war somit ein signifikanter Unterschied ( $p=0.009$ ) zwischen den Muskelfaserlängen der beiden Seiten zu erkennen. Ebenso zeigte sich bei der Nandrolongruppe ein signifikanter Unterschied von 0.9 cm zwischen den tiefen Muskelfaserlängen der unterschiedlichen Seiten ( $p=0.013$ ). Der oberflächlich gemessene Faserlängenunterschied war bei dieser Gruppe mit 0.4 cm nicht signifikant.

In der IGF-Gruppe konnten sowohl für die oberflächlichen, als auch für die in der Tiefe gelegenen Muskelfasern statistisch signifikante Unterschiede erkannt werden. Die oberflächlichen Fasern der Kontrollseiten in dieser Gruppe waren nämlich im Mittel 0.7 cm länger als die der operierten Seiten ( $p=0.016$ ) und die tiefen Fasern der Kontrollseiten maßen 0.8 cm mehr, als die der operierten Seiten ( $p=0.004$ ).

Auf der Höhe von 6 cm kaudal des Glenoids betrug der Längenunterschied der Fasern zwischen Op- und Kontrollseite bei der Kontroll- und IGF-Gruppe oberflächlich 0.4 cm bzw. 0.6 cm und in der Tiefe für beide Gruppen 0.9 cm. In der Nandrolongruppe waren an dieser Stelle die oberflächlichen Muskelfaserlängen der operierten Seiten um 0.1 cm länger, als die der Kontrollseiten. In der Tiefe allerdings waren wiederum die Muskelfasern der Kontrollseiten um 0.8 cm länger. Dies ergab statistische Signifikanzen für die Längenunterschiede der oberflächlichen Muskelfasern IGF-Gruppe ( $p=0.001$ ) und der tiefer gelegenen Muskelfasern aller drei Gruppen ( $p=0.003, 0.001, 0.000$ ).

Bei 9 cm waren die oberflächlich gelegenen Muskelfasern der kontralateralen Seite 0.4 cm (Kontrollgruppe), 0.4 cm (Nandrolongruppe) und 0.6 cm (IGF-Gruppe  $p=0.004$ ) länger als die der operierten Seite. Die Differenzen in der Länge der Fasern im tiefen Bereich der Muskeln waren mit 0.8 cm (Kontrollgruppe), 0.5 cm (Nandrolongruppe) und 0.8 cm (IGF-Gruppe) signifikant ( $p=0.004, 0.01, 0.000$ ).

0.6 cm, 0.4 cm und 0.7 cm betrugen die Längenunterschiede der oberflächlichen Fasern der Kontroll-, Nandrolon- und IGF-Gruppe, bei einer Distanz von 12 cm zum Glenoid, so dass hier mit p-Werten von 0.005, 0.032 und 0.001 in allen drei Fällen von einer statistisch signifikanten Differenz gesprochen werden konnte.

Die in der tiefe gelegenen Muskelfasern der Kontrollseiten maßen an diesem Punkt 0.5 cm (Kontrollgruppe), 0.4 cm (Nandrolongruppe) und 0.7 cm (IGF-Gruppe) mehr als die der operierten Seite. Diese Längenunterschiede waren nur für die IGF-Gruppe ( $p=0.012$ ) signifikant.

Zwischen mehreren Fiederungswinkeln und Muskelfaserlängen konnten sowohl an den gleichen Messpunkten, als auch an unterschiedlichen Stellen negative Korrelationen ( $p < 0.035$ ) beobachtet werden. Dementsprechend ergaben kleinere Fiederungswinkel eine größere Muskelfaserlänge, und größere Fiederungswinkel waren mit kürzeren Muskelfasern verknüpft.

Der auf den MRT-Bildern an der jeweils breitesten Stelle der Mm. infraspinati gemessene Muskeldurchmesser betrug auf der operierten Seite im Mittel 2.5 cm bei der Kontroll-, 2.3 cm bei der Nandrolon- und 2.4 cm bei der IGF-Gruppe.

Auf der Gegenseite wurden an den breitesten Stellen der Muskeln in allen drei Gruppen Mittelwerte von 3 cm gemessen. Die Differenzen betrugen somit 0.5 cm bei der Kontrollgruppe, 0.7 cm bei der Nandrolon- und 0.6 cm bei der IGF-Gruppe. Laut dem T-Test für unabhängige Proben waren dies bei allen drei Gruppen statistische signifikante Unterschiede (Kontrollgruppe  $p = 0.02$ , Nandrolongruppe  $p = 0.036$  und IGF-Gruppe  $p = 0.002$ ).

Die Messergebnisse der nicht erfolgreich refixierten Muskeln von Tieren der Kontroll- und der Nandrolongruppe stellte sich folgendermaßen dar (siehe auch Tab. 17 und Tab. 18):

Die Fiederungswinkel der operierten Muskeln näherten sich sowohl oberflächlich als auch in der Tiefe vom Messpunkt bei 3 cm bis zum Messpunkt bei 12 cm kaudal des Glenoids immer mehr denen der Kontrollseiten an. Betrug der Unterschied zwischen den Winkeln bei 3 cm kaudal des Glenoids zwischen Op- und Kontrollseite der Kontrollgruppe noch  $22^\circ$  oberflächlich bzw.  $60^\circ$  in der Tiefe, so nahm er über die 6 und 9 cm Marke immer mehr ab und lag schließlich bei 12 cm oberflächlich nur noch bei  $7^\circ$  und tief nur noch bei  $2^\circ$ .

In der Nandrolongruppe war das Bild ähnlich. Bei 3 cm konnten oberflächlich  $40^\circ$  und tief  $59^\circ$  Unterschied gemessen werden. Dann wurde der Unterschied zwischen den Winkelgrößen der Op- und Kontrollseiten immer kleiner, bis er am 12 cm Messpunkt noch  $15^\circ$  oberflächlich und  $1^\circ$  in der Tiefe betrug. Statistisch signifikant waren die Unterschiede zwischen den Op- und den Kontrollseiten für beide Gruppen bei 3 cm (oberflächlich Kontrollgruppe  $P = 0.041$ , Nandrolongruppe  $p < 0.0001$ ; tief Kontrollgruppe  $p = 0.002$ , Nandrolongruppe  $p = 0.011$ ) und für die tiefen Fiederungswinkeln bei 6 cm (Kontrollgruppe  $p = 0.001$ , Nandrolongruppe  $p = 0.047$ ).

Die Muskelfaserlängen der operierten Muskeln beider Gruppen waren sich durchgehend sehr ähnlich. Sie lagen oberflächlich zwischen 0.8 und 1.3 cm und in der Tiefe zwischen

0.7 und 1.2 cm. Auch die Muskelfaserlängen der Kontrollseiten beider Gruppen waren vergleichbar. So konnten oberflächlich Längen zwischen 1 und 2.1 cm gemessen werden und tief befanden sich die Messwerte zwischen 1.4 und 2 cm. Die Unterschiede zwischen den operierten Seiten und den Kontrollseiten betrugen demnach in der Kontrollgruppe oberflächlich zwischen 0.3 und 1 cm und tief zwischen 0.4 und 0.7 cm. In der Nandrolongruppe wurden oberflächlich Unterschiede von 0 - 0.5 cm gemessen und in der Tiefe konnten Differenzen von 0.7 - 1.2 cm festgestellt werden.

Statistisch signifikant waren die Unterschiede in der Kontrollgruppe bei den tiefen Muskelfaserlängen bei einem Abstand von 3 cm ( $p=0.027$ ), 6 cm ( $p=0.022$ ) und 9 cm ( $p=0.023$ ). Selbiges galt für die Nandrolongruppe für die oberflächlichen Faserlängen am 3 cm Messpunkt ( $p=0.007$ ) sowie die tiefen Muskelfaserlängen der Messpunkte bei 3 cm ( $p<0.0001$ ), 9 cm ( $p=0.016$ ) und 12 cm ( $p=0.009$ ).

Der mittlere Muskeldurchmesser in der Kontrollgruppe lag für die operierten Muskeln bei 2.3 cm und statistisch signifikant ( $p=0.036$ ) unter dem der nicht operierten Muskeln mit 2.6 cm. In der Nandrolongruppe war ebenso ein statistisch signifikanter Unterschied ( $p=0.013$ ) zwischen den im Mittel 2.4 cm dicken operierten Muskeln und den durchschnittlich 3.2 cm dicken nicht operierten Muskeln gegeben.

### **4.3 Auswertung der Sehnenhistologie**

Die genauen Ergebnisse der histologischen Auswertung der Sehnenbiopsien sind den Tab. 19 - 20 im Anhang zu entnehmen. Hierbei ist in Betracht zu ziehen, dass die während der Operation zur Implantation des Dehnungsapparates und der Refixationsoperation entnommenen Sehnenbiopsien sehr viel Narbengewebe enthalten haben bzw. auch ganz aus Narbengewebe bestanden haben könnten. Die Ursache ist in der zum Teil nicht vorhandenen Differenzierbarkeit der Sehnen vom umgebenden Narbengewebe während der Operationen zu suchen. Zwar wurde versucht, reines Sehngewebe zu entnehmen. Aber um der Fragilität der Knochenfragment-Sehnen-Komplexe Rechnung zu tragen, wurden möglichst geringe Mengen entnommen, so dass nicht auszuschließen ist, dass Narbengewebe anstelle von Sehngewebe entnommen wurde. Anders verhielt es sich zu den Zeitpunkten Tenotomie und Euthanasie. Während der Tenotomieoperation konnte die Sehne deutlich differenziert werden und somit eine sichere Biopsie entnommen werden. Die Sehnenbiopsien nach Euthanasie wurden bei der Sezierung der Muskeln entnommen, so dass auch zu diesem Zeitpunkt die Biopsie sicher aus reinem Sehngewebe bestand.



Im Folgenden wird also nur auf die histologischen Befunde der ersten und letzten Sehnenbiopsien eingegangen werden, um alle Zweifel von vornherein ausschließen zu können. Der Vereinfachung halber werden die am Tage der Tenotomie gewonnenen Biopsien von nun an auch als Biopsie A, die nach der Euthanasie entnommenen der operierten Seite auch als Biopsie Dop und die der Kontrollseite auch als Biopsie Dko bezeichnet. Es sollen nun zuerst die erfolgreichen Refixationen besprochen werden (Tab. 20) und erst im Anschluss daran wird eine Betrachtung der fehlgeschlagenen Refixationen (Tab. 19) erfolgen.

Die Zellzahlen der A-Biopsien befanden sich bei allen Gruppen auf etwa gleichem Niveau (0-50 Zellen/Gesichtsfeld). In den Dko-Biopsien der Kontrollgruppe lagen die Zellzahlen ebenso zwischen 0 und 50 Zellen pro Gesichtsfeld, die der IGF- und der Nandrolongruppe befanden sich bei diesen Biopsien zwischen 50 und 100 Zellen pro Gesichtsfeld. Im Vergleich hierzu war bei den Biopsien Dop aller drei Gruppen eine vermehrte Zellzahl zu finden (zwischen 100 und 150 Zellen oder höher). Die Nandrolongruppe zeigte eine höhere Zellzahl als die Kontrollgruppe, aber eine niedrigere als die IGF-Gruppe. Bei der Betrachtung der Zeitpunkte innerhalb der Gruppen, fiel auf, dass sowohl bei der Nandrolongruppe als auch bei der IGF-Gruppe die Zellzahl von Dop statistisch signifikant höher war, als bei A und Dko (Nandrolongruppe:  $p=0.012$  bzw.  $p=0.018$ , IGF-Gruppe: beide Male  $p<0.0001$ ).

Beim Vergleich der Zellkernmorphologie („Rounding“) konnte ein für alle drei Gruppen etwa gleiches Bild festgestellt werden. Eine vermehrt runder werdende Zellkernform war vor allem bei den Zellen der Dop Biopsien zu sehen. Niedrigere Histologiescorepunkte erhielten hingegen die Biopsien A gefolgt von den Biopsien Dko mit etwa einem halben Punkt Unterschied. Statistisch signifikant war der Unterschied zwischen Dop und Dko in der IGF-Gruppe ( $p=0.007$ ).

Im Rahmen der Beurteilung der Vaskularität fällt die Variabilität der Standardabweichung bei Dop auf. Grundsätzlich waren vermehrt Gefäße im Sehnengewebe der operierten Seite zum Zeitpunkt der Euthanasie festzustellen, allerdings ohne statistisch signifikante Werte zu erreichen. Auch zwischen den Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede. Bei den Biopsien A und Dko wurden keine oder weniger als drei Gefäße in drei Gesichtsfeldern ausgezählt. Gravierende Unterschiede zwischen den Gruppen waren auch hier nicht auffällig.

Bereiche mit chondroider Metaplasie wurden in geringer Zahl bei der Nandrolongruppe und der IGF-Gruppe gefunden. Die IGF-Gruppe wies solche Bereiche in

Tenotomiebiopsien auf. Bei der Nandrolongruppe waren sie in Dop Biopsien zu finden. Statistisch signifikante Unterschiede waren nicht gegeben.

Der mit der Toluidinblau Färbung dargestellte Proteoglykangehalt der Sehnenbiopsien A und Dko war bei den Tieren der Kontrollgruppe und denen der IGF-Gruppe ähnlich gering. Beide erhielten einen Score von um die oder unter 0.5 Punkten. Vergleicht man die Biopsien A der Nandrolongruppe mit denen der IGF-Gruppe, wiesen die Sehnenbiopsien der Nandrolongruppe eine Tendenz zu höheren Proteoglykanwerten auf ( $p=0.062$ ). Der Proteoglykangehalt der Dop Biopsien war bei der Nandrolongruppe am größten, gefolgt von der IGF-Gruppe. Die Kontrollgruppe wies zu diesem Zeitpunkt am wenigsten Proteoglykan auf. Im Vergleich zum Tenotomiezeitpunkt war der Proteoglykangehalt in dieser Gruppe nahezu unverändert.

Bei der Betrachtung des Decoringehalts konnte festgestellt werden, dass dieser bei der IGF-Gruppe in den A Biopsien am höchsten war, gefolgt von den Dko Biopsien und schließlich den deutlich geringer angefärbten Dop Biopsien. Der Gehaltsunterschied zwischen den A Biopsien und den Dop Schnitten war hier statistisch signifikant ( $p=0.007$ ). Auch in der Kontrollgruppe war der Decoringehalt in den A-Biopsien am höchsten. Im Gegensatz zur IGF-Gruppe zeigte sich in dieser Gruppe aber eine ähnliche schwache Anfärbung der Euthanasiebiopsien von operierter und Gegenseite. In der Nandrolongruppe hingegen war kein Unterschied zwischen den A-Biopsien und den Dop-Biopsien gegeben. Der Decoringehalt in den Dko-Biopsien lag in dieser Gruppe im Mittel 0.5 Histologiescorepunkte unter denen der beiden anderen Biopsien. Zwischen den einzelnen Gruppen waren wegen der zum Teil großen Standardabweichungen keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellbar.

Sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der IGF-Gruppe wiesen die Dko-Biopsien mit etwa 150  $\mu\text{m}$  respektive  $>150 \mu\text{m}$  die größte Sehnenfaserwellenlänge auf, mit einem nur kleinen Unterschied zu den Tenotomiebiopsien (je 100-150  $\mu\text{m}$ ) und einem größeren zu den Biopsien Dop (50-75  $\mu\text{m}$  bzw. 75-100  $\mu\text{m}$ ), welche somit die kürzesten Sehnenfaserwellenlängen dieser zwei Gruppen aufwiesen. In der IGF-Gruppe war eine klare Tendenz in dieser Richtung zu erkennen ( $p=0.05$ ; nach Bonferroni sogar Signifikanz mit  $p=0.028$  zwischen Dop und Dko).

Auch bei den Biopsien der Nandrolongruppe zeigten die Sehnenfasern der Kontrollseitenbiopsien mit etwa 150  $\mu\text{m}$  die größte Wellenlänge. Allerdings waren hier, wenn auch in geringem Maße, größere Wellenlängen bei den Dop-Biopsien zu finden

(ca. 100  $\mu\text{m}$ ), als bei den A Biopsien (50-100  $\mu\text{m}$ ). Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht zu erkennen.

IGF- und Kontrollgruppe ließen bei der Beurteilung der Sehnenfaserausrichtung einen ähnlichen Verlauf erkennen. Mit nahezu 100% paralleler Fasern war die Parallelität in diesen Gruppen jeweils bei Sehnenfasern der A-Biopsien am größten. Die Sehnenfaserparallelität der Dko-Biopsien lag in diesen beiden Gruppen zwischen 50 und 75%, ebenso wie die der Dop-Biopsien. Unter den Biopsien der Nandrolongruppe war der Anteil paralleler Sehnenfasern bei den A- und Dko-Biopsien am größten (75-100%). Die Dop-Biopsien enthielten nur etwa 50% paralleler Sehnenfasern. Allerdings war die Standardabweichung mit  $\pm 1.5$  Histologiescorepunkten bei den Dop-Biopsien sehr groß.

Bei der Betrachtung der nicht erfolgreich refixierten Muskelsehneneinheiten ergab sich folgendes Bild:

In beiden Gruppen waren sich die ausgezählten Zellzahlen der A-Biopsien und der Dko-Biopsien sehr ähnlich, wobei die Dko-Biopsien mit 25-50 Zellen pro Gesichtsfeld die geringeren Zellzahlen enthielten.

Deutlich höhere Zellzahlen waren mit durchschnittlich 100-150 Zellen in der Kontrollgruppe bzw.  $>150$  Zellen in der Nandrolongruppe in beiden Gruppen für die Dop-Biopsien zu erkennen. In der Nandrolongruppe war der Unterschied zwischen Dop und Dko sowie zwischen Dop und A von statistischer Signifikanz ( $p= 0.012$  bzw.  $p= 0.038$ ). Auch bei der Betrachtung der Zellkernmorphologie waren sich die beiden Gruppen ähnlich. Die Zellkerne der Biopsien A und Dko waren spindelförmig, wohingegen die Zellkerne der Dop-Biopsien rundlichere Formen aufwiesen. In keiner der beiden Gruppen wurden in den Dko-Biopsien Gefäße im Sehnengewebe selbst gefunden. Auch bei den A-Biopsien waren die Gefäßzahlen von maximal einem bis zwei Gefäßen in drei Gesichtsfeldern sehr gering. In der Kontrollgruppe konnten auch bei den Dop-Biopsien nur maximal drei Gefäße gefunden werden. Die Dop-Biopsien der Nandrolongruppe wiesen allerdings mit drei bis sechs Gefäßen größere Werte auf.

Chondroide Metaplasie war nur bei zwei der drei Schafe der Nandrolongruppe in den Biopsien des Tenotomiezeitpunktes vorhanden.

Weder die A- noch die Dko-Biopsien der Kontrollgruppe zeigten Färbung nach Behandlung mit Toluidinblau. Ebenso wenig ließen sich die Dko-Biopsien der Nandrolongruppe anfärben. Eine leichte Färbung war bei den A-Biopsien der Nandrolongruppe sowie bei den Dop-Biopsien beider Gruppen erkennbar.

Der Decoringehalt der A- und Dko-Biopsien der Kontrollgruppe wurde mit 1.5 Histologiescorepunkten bewertet, insofern stellte sich die Färbung schwach bis moderat dar. Die Dop-Biopsien dieser Gruppe erhielten im Mittel 0.5 Scorepunkte, zeigten also fast keine Färbung. Bei der Nandrolongruppe konnte bei den A- und Dko-Biopsien eine schwache Färbung festgestellt werden (0.75 bzw. 1 Scorepunkte). Die Dop-Biopsien waren schwach, aber etwas deutlicher als die A- und Dko-Biopsien angefärbt (1.3 Scorepunkte).

Die Sehnenfaserwellenlänge betrug in der Kontrollgruppe bei den Dko-Biopsien zwischen 150 und 200  $\mu\text{m}$  und bei den A-Biopsien 100 bis 150  $\mu\text{m}$ . In den Dop-Biopsien dieser Gruppe wurden Längen zwischen 50 und 100  $\mu\text{m}$  gemessen. In der Nandrolongruppe konnten in den A-, den Dko- und den Dop-Biopsien Wellenlängen zwischen 100 und 150  $\mu\text{m}$  festgestellt werden, wobei die Dko- und Dop-Biopsien eher im Bereich der 150  $\mu\text{m}$  und die A-Biopsien näher am Bereich der 100  $\mu\text{m}$  lagen.

In beiden Gruppen waren 100% der Sehnenfasern in den A- und Dko-Biopsien parallel ausgerichtet. In den Dop-Biopsien konnten bei der Kontrollgruppe 50-75% als parallel bezeichnet werden. In der Nandrolongruppe waren es hier 25-50% der Sehnenfasern. Dieser Unterschied in der Anzahl der parallelen Sehnenfasern zeigte zwischen den A- und Dop-Biopsien ( $p=0.051$ ) sowie den Dko- und Dop-Biopsien ( $p=0.051$ ) eine deutliche Tendenz auf.

#### **4.4 Auswertung von Muskelgewicht und Muskelvolumen**

Die genauen Ergebnisse der Auswertung sind den Tab. 21-24 im Anhang zu entnehmen. Wurden in den einzelnen Gruppen die Mittelwerte der Gewichte der Mm. infraspinati mit und ohne Knochenfragment der operierten Seite mit denen der Kontrollseite verglichen, so ergaben sich für alle drei Gruppen, ob erfolgreich refixiert oder nicht, statistisch signifikante Unterschiede (Tab. 25).

Beim Volumenvergleich der Mm. infraspinati der rechten und der linken Seite konnten bei den Tieren mit erfolgreicher Refixation nur in der IGF- ( $p=0.001$ ) und Nandrolongruppe ( $p<0.0001$ ) signifikante Unterschiede festgestellt werden. Bei den Tieren mit nicht erfolgreicher Refixation war der Volumenunterschied zwischen rechter und linker Seite in der Kontrollgruppe ( $p=0.038$ ) und der Nandrolongruppe ( $p=0.015$ ) signifikant.

Beim direkten Vergleich des Muskelgewichts der operierten Seite zwischen den Tieren mit erfolgreicher und nicht erfolgreicher Refixation in der Nandrolongruppe konnte

festgestellt werden, dass das Muskelgewicht der Tiere mit erfolgreicher Refixation statistisch signifikant ( $p=0.028$ ) höher war, als das der nicht erfolgreich refixierten Muskeln. Bedeutende Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht vorhanden.

### **4.5 Körpergewicht der Schafe**

Das gemittelte Körpergewicht der Schafe aus den einzelnen Gruppen wird in der Tab. 26 dargestellt. Da eine erfolgreiche und nicht erfolgreiche Durchführung der Refixation keinen bedeutenden Einfluss auf das Gesamtkörpergewicht der Tiere gehabt haben sollte und der Hauptgrund der genauen Gewichtsmessung die Kontrolle der potentiellen Auswirkungen der Anabolika und des IGF-I auf das Gewicht der Tiere gewesen ist, wird an dieser Stelle keine Trennung zwischen Tieren mit erfolgreicher und nicht erfolgreicher Refixation vorgenommen.

Bei Tenotomie war das mittlere Körpergewicht aller Tiere der drei Gruppen ähnlich groß. Es betrug ca. 53 kg in der Kontroll- und Nandrolongruppe und ca. 58 kg in der IGF-Gruppe.

Zum Zeitpunkt der Implantation des Dehnungsapparates betrug das mittlere Gewicht der Schafe aus der IGF-Gruppe 10.2 kg mehr, als das der Schafe aus der Nandrolongruppe, was einen statistisch signifikanten ( $p=0.007$ ) Gewichtsunterschied darstellt.

Bei der Operation zur Refixation des M. infraspinatus brachten die Schafe der IGF-Gruppe im Mittelwert noch 9.5 kg mehr auf die Wage, als die der Nandrolongruppe, weiterhin ein signifikanter Unterschied ( $p=0.029$ ).

Am Tage der Euthanasie wogen die Tiere der Nandrolongruppe nur noch 5.9 kg weniger, als die Tiere der IGF-Gruppe. Dafür war aber eine statistisch signifikante Gewichts Differenz von 8.7 kg zwischen der leichteren Kontrollgruppe (60.7 kg) und der IGF-Gruppe (69.4 kg) festzustellen ( $p=0.018$ ).

Die Gewichtszunahme über den gesamten Zeitraum war bei den drei Gruppen ähnlich. So nahmen die Schafe der Kontrollgruppe im Mittel 7.9 kg zu, die der IGF-Gruppe 11.6 kg und die Tiere der Nandrolongruppe wogen am Ende der Zeit 11 kg mehr als zu Beginn.

## 5 Diskussion

Die vorliegende Arbeit ist als Nachfolgestudie zu einer von Gerber *et al.* (3, 51) durchgeführten Studie zu sehen. Es sollten die zuvor erbrachten Ergebnisse reproduziert und durch Einsatz eines verbesserten, subkutanen Dehnapparates zuvor aufgetretene Komplikationen vermieden werden. Weiterhin sollte versucht werden durch den Einsatz des Androgens, Nandrolon Decanoas, oder des Wachstumshormons IGF I während der kontinuierlichen Dehnung der Muskel-Sehnen-Einheit die Regeneration des M. infraspinatus zu verbessern und die Atrophie sowie die fettige Infiltration wenn möglich reversibel zu machen. Auf manche Aspekte dieser Studie konnte aus verschiedenen Gründen in der vorliegenden Arbeit nicht eingegangen werden. So werden die Ergebnisse der Muskelhistologie, der Kraftmessungen und der Muskeldichtebestimmungen (fettige Infiltration) zu gegebener Zeit an anderer Stelle diskutiert werden.

Mit den aktuellen Untersuchungen konnten die Ergebnisse der vorangegangenen Studie im Hinblick auf die Muskelatrophie bestätigt werden. Auch konnten die zuvor durch die Verwendung eines transkutanen Dehnapparates aufgetretenen Komplikationen, wie Infektionen, nun durch den Einsatz eines die Haut nicht mehr perforierenden Dehnapparates vermieden werden. Allerdings zeigten weder Nandrolon Decanoas noch IGF I besondere zusätzliche positive Auswirkungen auf die Regeneration des Muskels.

### 5.1 Das Versuchsmodell

Da es sich bei dieser Studie um ein Nachfolgemodell vorangegangener Forschungsarbeiten von Gerber *et al.* (3,51) handelte, wurde der gleiche Versuchsaufbau gewählt um die Ergebnisse direkt vergleichbar zu machen. Das Schaf wurde wiederum als Versuchstier ausgewählt, da es sich bei dieser Spezies um phylogenetisch hochstehende Tiere handelt und das Modell somit als dem Menschen ähnlich bewertet werden kann (52). Hinzu kommt, dass auch Muskelphysiologie und Körpergewicht dieser Tierart dem Menschen sehr ähnlich sind. Kaninchen, die sich ebenfalls gut als Tiermodell für die Erforschung der Rotatorenmanschettenproblematik eignen (13,49), wurden in diesem Fall nicht verwendet, da zum einen die direkte Vergleichbarkeit zu den vorangegangenen Studien gefehlt hätte und zum anderen der Dehnungsapparat auf dem derzeitigen Stand seiner Entwicklung zu groß für eine Implantation in das Kaninchenschulterblatt gewesen wäre. Im Unterschied zu der

Vorläuferstudie wurde diesmal allerdings kein transkutaner Dehnungsapparat verwendet, sondern eine komplett von Muskelschicht und Haut bedeckte Dehnungsvorrichtung. Somit wurde der zuvor bestehenden äußerst hohen Infektionsgefahr entgegengewirkt. Die ausgewählten 20 adulten weiblichen Schafe wurden drei unterschiedlichen Gruppen zugeordnet. Die erste Gruppe von sieben Tieren wurde als Kontrollgruppe geführt, da sie keinerlei zusätzliche Behandlung erfuhr. Der zweiten Gruppe, die ebenfalls aus sieben Tieren bestand, wurde während der Dehnungsphase intramuskulär Nandrolon Decanoas appliziert und die dritte Gruppe, welche sechs Tiere enthielt, erhielt während der Implantationsoperation IGF-I Mikropartikel injiziert, die über den Zeitraum der Muskeldehnung lokal kontinuierlich IGF-I freisetzen. Die Applikation des Wachstumsfaktors und des Androgens direkt in den M. infraspinatus scheint keine direkten maßgeblichen Unterschiede bewirkt zu haben. In einer Kaninchenstudie von Farshad *et al.* (49) konnte allerdings nachgewiesen werden, dass während der Retraktionsphase des M. supraspinatus sowohl lokal als auch systemisch appliziertes Nandrolon Decanoas die Retraktion des Muskels signifikant verringerte, wobei die Gruppe der systemisch behandelten Kaninchen die geringste Retraktion aufwies. Auch war in dieser Studie nur in der systemisch behandelten Gruppe die Reduktion der Muskelfläche als Maß der Atrophie nicht signifikant. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass eine systemische Applikation der lokalen Injektion in diesem Bereich vorzuziehen ist. Ebenso scheint die Injektion während der Retraktionsphase weit bessere Erfolge zu erzielen, als eine Applikation während der Dehnungsphase. Weitere Forschung auf diesem Gebiet sollte diese Unterschiede in den Resultaten erhärten.

## 5.2 Operationen und postoperative Phasen

Die Tenotomieoperation verlief bei allen 20 Schafen komplikationslos. Ebenso wie alle computertomographischen Untersuchungen. Die Operation zur Implantation des Dehnungsapparates gestaltete sich ebenso nahezu problemlos. Die Knochenfragmente waren Dank der Penrose Drainage gut auffindbar und die Implantation des Dehnungsapparates verlief durchweg plangemäß. Nur in zwei Fällen (2227, 2234) hatte sich durch ein Loch im Drain eine Neo-Sehne bilden können, die wieder mit dem T. majus verwachsen war, so dass die Retraktion der Muskeln in diesen Fällen nicht so ausgeprägt war, wie bei den anderen Tieren. Die Retraktion war allerdings immer noch ausreichend, so dass die Tiere nicht aus dem Versuch ausgeschlossen werden mussten.

Bei der Entnahme der Sehnenbiopsien wurde zudem ersichtlich, dass eine zweifelsfrei reine Entnahme von ausschließlich Sehngewebe nahezu unmöglich war. Die Sehnen waren intra operationem unmöglich klar von angrenzendem Narben- und Bindegewebe differenzierbar. Auch konnten nur sehr kleine Biopsien entnommen werden, damit der Knochenfragment-Sehnen-Komplex nicht unnötig geschwächt wurde. Somit war also auch die Entnahme einer entsprechend größeren Gewebemenge zum Ausgleich der Unsicherheit über die Gewebeart auszuschließen. Nach mikroskopischer Begutachtung wurden somit die Sehnenbiopsien des Implantationszeitpunktes nicht in die Auswertung einbezogen.

Während der sechswöchigen Dehnungsphase waren im Gegensatz zur Vorläuferstudie (51) keinerlei Infektionen erkennbar, dafür wurden andere Komplikationen ersichtlich. Bei den computertomographischen Kontrollen, die jeweils im Abstand von zwei Wochen durchgeführt wurden, konnte der Fortschritt der Dehnung der Muskel-Sehnen-Einheit beurteilt werden. Bei insgesamt neun Schafen wurde hierbei ersichtlich, dass die Dehnungsapparate zu einem der beiden Kontrollzeitpunkte nicht weit genug ausgefahren waren, um die für den Refixationszeitpunkt erwünschte Dehnung zu erzielen. Acht Schafe wiesen hingegen schon beim ersten Kontrolltermin einen zu weit ausgefahren Dehnungsapparat auf. Die Ursache für die nicht weit genug ausgefahrenen Dehnungsapparate ist sicherlich in der Behinderung des Druckmechanismus durch eingewachsenes Narbengewebe zu suchen. Denn sowohl während den zum Teil notwendigen Revisionsoperationen, als auch bei allen Refixationsoperationen konnte festgestellt werden, dass die Schutzbügel gänzlich von Narbengewebe ausgefüllt waren. Dieses Narbengewebe erschwerte die Betätigung des Hebels in hohem Masse. Um auszugleichen, dass die Hebel nicht vollständig heruntergedrückt werden konnten, wurde die Betätigungszahl entsprechend erhöht.

Als Ursache für die zu weit ausgefahrenen Dehnungsapparate wurde in der ersten Gruppe zuerst eine Betätigung der Hebel durch die Schafe selbst vermutet. Die Schafe hätten durch Reiben an der Boxenwand oder gegenseitiges Stoßen die ungeschützten Hebel betätigen können. Um diese Möglichkeit in den anderen Gruppen ausschließen zu können, wurde ein Hebelschutz entwickelt und bei allen folgenden Implantationen mit eingesetzt. Aber auch in den folgenden Gruppen wurden schon beim ersten Kontroll-CT zu weit ausgefahrne Dehnungsapparate beobachtet. Somit kann das Reiben der Schafe untereinander oder an den Boxenwänden nicht der einzige Grund gewesen sein. Vielmehr ist zu vermuten, dass sich durch das Einwachsen von Narbengewebe eine Art



Binde-Narbengewebs-Tasche um den Ausfuhrhebel gelegt hat, welche über das restliche Narbengewebe mit der Faszie des M. supraspinatus verbunden war. Somit könnte der Hebel bei jeder Kontraktion dieses Muskels minimal mitbewegt und der Hals des Dehnungsapparates somit ausgefahren worden sein. Zieht man in Betracht, dass die Tiere sich in den Boxen in normalem Umfang bewegen konnten, könnten die Dehnungsapparate sicher bis auf die festgestellten Längen ausgefahren worden sein. Bei zwei Schafen (2221, 2229) rissen durch das zu rapide Ausfahren des Halses des Dehnungsapparates die FiberWire aus den Knochenfragment-Sehnen-Komplexen aus. Revisionen wurden erforderlich, in denen die Knochenfragment-Sehnen-Komplexe erneut an den Dehnungsapparaten befestigt wurden. In einem Fall (2224) riss sogar die Sehne des M. infraspinatus direkt hinter dem Knochenfragment ab, was eine erfolgreiche Revision und darauffolgende Refixation unmöglich machte. Das Schaf wurde daraufhin als nicht erfolgreich refixiert geführt und getrennt von den erfolgreich refixierten Tieren betrachtet.

Eine weitere Komplikation entstand durch Materialschwäche des Dehnungsapparates. In sechs Fällen (2226, 2228, 2233, 2234, 2238, 2239) hielt das Scharnier des Dehnungsapparates den einwirkenden Kräften nicht stand und brach. Wiederum wurden Revisionen erforderlich, während derer die Hälse der Dehnungsapparate ausgetauscht werden mussten.

Die Operationen zur Refixation des Knochenfragmentes am T. majus des Humerus verliefen operationstechnisch ohne Vorkommnisse. Bei zwei Schafen (2222, 2229) konnten allerdings keine Refixation vorgenommen werden, da bei dem einen die FiberWire aus dem Knochenfragment ausgerissen waren und sich der Muskel wieder zu stark retrahiert hatte und bei dem anderen die Sehne direkt hinter dem Knochenfragment gerissen war. Beide Schafe wurden der jeweiligen Gruppe der Tiere mit nicht erfolgreicher Refixation zugeordnet.

Die auf die Refixation folgende vierwöchige Ruhephase, in der die Tiere durch Netze gestützt waren, wurde von allen Tieren gut toleriert. Auftretende Scheuerstellen konnten durch Behandlung mit entsprechenden Salben oder Polsterung mit Watte gut behandelt und schnell zum Abheilen gebracht werden. Auch in der darauffolgenden Zeit bis zur Euthanasie traten keine weiteren Komplikationen auf.

Bei der makroskopischen Betrachtung der refixierten Muskeln am Tage der Euthanasie musste bei drei Tieren (2223, 2230, 2231) festgestellt werden, dass die zur Refixation

verwendeten FiberWire nicht mehr unter Spannung standen. Diese Schafe wurden ebenfalls den Gruppen mit den Tieren mit nicht erfolgreicher Refixation zugeordnet. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die größten Komplikationen durch die nicht genaue Steuerbarkeit des Dehnungsapparates und dadurch verursachte zu starke und zu schnelle Dehnung oder aber durch dessen Materialschwäche im Scharnier verursacht wurden. Da durch das zu schnelle Ausfahren des Dehnungsapparates Sehnenrupturen verursacht wurden und durch das Materialversagen für die betroffenen Tiere ein zusätzlicher operativer Eingriff notwendig wurde, sollte die Konstruktion des Spanners noch einmal überdacht werden. Vielleicht könnte ein elektronischer Ausführmechanismus, der über eine Fernsteuerung bedient wird und somit von mechanischer Krafteinwirkung von außen unabhängig ist, die Lösung zu dem ersten Problem darstellen. Das Scharnier an der Spitze des Halses des Dehnungsapparates sollte zusätzlich verstärkt oder aber durch leichte Veränderung der Konstruktion vermieden werden.

Im Bezug auf diese Studie an sich kann aber gesagt werden, dass auch wenn die Problematik mit dem Dehnungsapparat einige Revisionen erforderlich gemacht hat, die Ergebnisse mit der Ausnahme, dass wenige Schafe als nicht erfolgreich refixierte Tiere eingestuft wurden, letztlich nicht gravierend beeinflusst wurden. Durch die engmaschige CT-Kontrolle konnte immer umgehend auf Probleme reagiert werden und damit eine kontinuierliche Dehnung des Muskels aufrecht erhalten werden.

## **5.3 Radiologische Auswertung**

### **5.3.1 Computertomographie**

Die zu jedem Operationszeitpunkt angefertigten computertomographischen Aufnahmen dienten zur Auswertung der Sehnen- und Muskelretraktion sowie der Muskelfläche als Maß der Muskelatrophie. Bei Betrachtung des Gesamtzeitraums erwiesen sich die Messungen auf coronarer Ebene als meßtechnisch konstanter und vergleichbarer, als die der sagittalen Schnittbilder. Durch die feste Definition der Wahl des ersten coronaren Schnittbildes, auf dem der M. infraspinatus ganz auf der Skapula aufliegt, also kein Muskelanteil nach ventral den Rand der Skapula mehr überragt, waren alle ausgewählten Schnittbilder sehr ähnlich. Sagittal hingegen, waren teilweise recht deutliche, lagerungstechnisch bedingte Unterschiede festzustellen, die gerade im Bezug auf die Messung der Muskelatrophie Einfluss genommen haben könnten. Die coronare Schnittebene ist somit als die für reproduzierbare Messungen geeignetere zu beurteilen.

Zum Tenotomiezeitpunkt wurde der Nullpunkt der Messungen erfasst. Die leicht unterschiedliche Positionierung des Knochenfragmentes am Ende der Operation führte hier zu unterschiedlichen Ausgangswerten bei der Sehnen- und Muskelretraktion, die aber durch den Vergleich der relativen und nicht der absoluten Werte vernachlässigt werden können.

Der Unterschied zwischen den Werten vom Tenotomie-CT und denen des CTs vom Tage der Implantation stellt die in den 16 Wochen Zwischenzeit entstandene Sehnen- und Muskelretraktion sowie die verursachte Muskelatrophie dar.

In allen Gruppen konnte mit  $22 \pm 4$  mm eine für die Studie notwendige Retraktion des Knochenfragmentes und somit der Sehne des M. infraspinatus erreicht werden. Die Muskelfläche betrug sagittal nur noch 76% ( $\pm 3.7\%$ ) und coronar nur noch 73% ( $\pm 2.2\%$ ) der kontralateralen Seite, es war also auch eine entsprechende Muskelatrophie erkennbar. Durch die kontinuierliche Dehnung über sechs Wochen konnte in allen drei Gruppen eine genügend große Verlängerung der Muskel-Sehnen-Einheit verzeichnet werden, insgesamt waren die Sehnen der IGF-Gruppe allerdings am wenigsten gedehnt worden. Nach erfolgreicher Refixation blieb bei der Kontroll- und Nandrolongruppe die Muskel- und Sehnenlänge nahezu konstant. In der IGF-Gruppe allerdings retrahierte sich die Sehne bis zur Euthanasie wieder um im Mittel 1.1 cm. Da während der Operation am Tage der Euthanasie makroskopisch bei allen Tieren der IGF-Gruppe eine intakte und unter Spannung stehende Verbindung zwischen Knochenfragment-Sehnen-Komplex und dem T. majus des Humerus festgestellt worden war, wurde in dieser Gruppe allerdings keines der Tiere einer Gruppe mit nicht erfolgreicher Refixation zugeteilt. Die erneute Retraktion könnte somit eventuell auf ein Nachgeben der FiberWires, bzw. der Knoten oder aber einen teilweisen Riss oder eine Schwächung der Refixation an sich zurückzuführen sein, die im weiteren Verlauf durch Neo-Sehnenbildung so stabilisiert wurde, dass es nicht zu einem vollkommenen Versagen der Refixation kam. Da die Dehnung in dieser Gruppe am wenigsten stark erfolgt war, lagen somit die Knochenfragmente zum Zeitpunkt der Refixation im Mittel weiter von der Insertionsstelle am T. majus entfernt, als die der beiden anderen Gruppen. So mussten auch die für die Refixation und Überbrückung der bestehenden Distanz zwischen Insertionspunkt und Knochenfragment genutzten FibreWires länger sein, als in den anderen Gruppen. Hinzu kommt, dass beim genauen Vergleich der CT-Bilder vom Refixations- und Euthanasiezeitpunkt auffällt, dass in einigen Fällen - und dies besonders in der IGF-Gruppe - zum Refixaionszeitpunkt eine deutliche Außenrotation

des Humerus im Schultergelenk erkennbar ist. Vermutlich wurde während der Operation der Humerus zur Verminderung der Distanz zwischen Knochenfragment und Insertionspunkt am T. majus so im Schultergelenk verschoben, dass nach vollendeter Refixation immer noch eine artifizielle Außenrotation bestehen blieb. Somit standen diese Refixationen unter besonderer Zugbelastung, was eine entsprechende Dehnung des Refixationsmaterials bzw. ein Teilversagen der Refixation und damit eine erneute Retraktion erklären könnte. Die Retraktion der Mm. infraspinati der Tiere bei denen die Dehnung oder die Refixation nicht erfolgreich durchgeführt werden konnte, schritt wie nicht anders zu erwarten durchgehend weiter fort.

Die Muskelfläche als Ausdruck der Atrophie nahm sowohl auf den sagittalen als auch auf den coronaren Schnittbildern bei allen drei Gruppen vom Beginn der Dehnungsphase bis zur Euthanasie hin wieder zu. Dies bestätigt die Ergebnisse der Vorläuferstudie (3), dass die nach Sehnenruptur und darauffolgender Muskelretraktion entstehende Muskelatrophie durch kontinuierliche Dehnung gestoppt und teilweise reversibel gemacht werden kann. Da sich die Muskeln aller drei Gruppen in etwa gleichem Maße erholten kann hier von keiner unterstützenden Wirkung von Nandrolon Decanoas oder von IGF-I ausgegangen werden.

### **5.3.2 Magnetresonanztomographie**

Auf den nach der Euthanasie angefertigten Magnetresonanztomographieaufnahmen, konnten die Fiederungswinkel und die Längen der Muskelfasern der Mm. infraspinati ermittelt werden. Auch wurde der Durchmesser der Muskeln an ihrer breitesten Stelle erfasst. Bei der Betrachtung der Fiederungswinkel fallen zwei Besonderheiten auf. Zum einen sind die Fiederungswinkel, die in einer Entfernung von 3 cm und 6 cm vom Glenoid entfernt gemessen wurden auf der operierten Seite deutlich größer, als die auf der Kontrollseite. Im Gegensatz zu den bei 9 und 12 cm Entfernung zum Glenoid gemessenen Fiederungswinkeln, die denen der Kontrollseite stark ähnelten bzw. diesen gleich waren. Vergleicht man weiterhin die gemessenen Werte der Kontrollseite mit denen der Vorläuferstudie, so liegen die Werte unserer Studie im Mittel 3°-10° höher.

Beide genannten Tatsachen könnten ihre Ursache darin haben, dass während der Operation am Tage der Euthanasie erneut, bzw. im Falle der Kontrollseite zum ersten Mal, eine Tenotomie der Infraspinatussehne durchgeführt worden war, um die Kraftmessung durchführen zu können. Die Muskeln wurden im Anschluss an die Kraftmessung nicht erneut refixiert sondern im tenotomierten Zustand belassen.

Zwar wurden die entnommenen Gliedmaßen zeitnah eingefroren, aber die Muskeln standen dennoch eine gewisse Zeit lang nicht mehr unter Spannung und waren auch zum Zeitpunkt der MRTs nicht an ihrem Insertionspunkt befestigt. Dies kann sowohl bei den Muskeln der operierten Seite als auch bei den Muskeln der Kontrollseite den Unterschied in der Größe der Fiederungswinkel bewirkt haben.

Dass die dem Knochenfragment nahen Fiederungswinkel der operierten Muskeln größer waren als die weiter entfernten Winkel könnte daran liegen, dass die Mm. infraspinati Knochenfragment nah stärker aus dem umgebenden Gewebe ausgelöst waren, als weiter in Richtung ihres knochenfragmentfernen Endes. Somit könnten die Fiederungswinkel der Muskelfasern im kranialen Bereich nach Verlust der Aufhängung des Muskels stärker betroffen gewesen sein, als die auch noch durch andere Strukturen gestützten und in ursprünglicher Richtung gehaltenen Fiederungswinkel der weiter kaudal gelegenen Fasern. Keine der Gruppen unterschied sich signifikant von den anderen. Tendenziell jedoch wiesen die operierten Muskeln der Nandrolongruppe an allen Messpunkten die den Winkeln der Kontrollseite ähnlichsten Fiederungswinkel aller drei Gruppen auf.

Die Muskelfaserlängen waren in allen Gruppen und an allen Messpunkten ähnlich. Im Mittel waren die Muskelfaserlängen der operierten Muskeln allerdings noch immer kürzer als die der Kontrollseiten.

Der Muskeldurchmesser war ebenso in allen Gruppen nahezu gleich. Im Vergleich mit der Kontrollseite bestanden jedoch noch statistisch signifikante Unterschiede.

Zieht man in Betracht, dass durch die kontinuierliche Dehnung auch die Muskelatrophie nur teilweise reversibel gemacht wurde, sind diese Messwerte nachvollziehbar im Einklang mit den restlichen Ergebnissen. Zusammenfassend kann also davon ausgegangen werden, dass grundsätzlich die Architektur des Muskels nach Refixation wiederhergestellt war, wie dies auch in der Vorläuferstudie (3) beschrieben wurde und dass die Muskelfaserlänge und der Muskeldurchmesser, auch wenn noch nicht wieder Werte wie auf der Kontrollseite erreicht wurden, auf eine Regeneration der Muskeln hinweisen. Die mit Nandrolon Decanoas behandelte Gruppe wies im Bezug auf die Fiederungswinkel tendenziell bessere Werte auf als die beiden anderen Gruppen und auch die Länge der Muskelfasern war in der Nandrolongruppe meist etwas größer. In diesem Bereich scheint Nandrolon also einen leichten positiven Einfluss gehabt zu haben.

## **5.4 Probengewinnung und Aufarbeitung**

Die Biopsie der Sehne des M. infraspinatus konnte bei allen Tieren zum Tenotomie- und Euthanasiezeitpunkt ohne Komplikationen durchgeführt werden. Auf die Schwierigkeiten bei der Entnahme zum Implantations- und Refixationszeitpunkt wurde unter 4.3 eingegangen.

Die Probenaufbereitung und Färbung wurde vom Veterinärpathologischen Institut der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich komplikationslos nach einer standardisierten Methode vorgenommen.

## **5.5 Histologische Auswertung**

Studien an Sehnen konnten schon mehrfach zeigen, dass normale Sehnen ihre Länge und biomechanischen Eigenschaften als Antwort auf Änderungen der funktionellen Anforderungen anpassen können (53-55). Allerdings war bisher nur wenig über die morphologischen Veränderungen von rupturierten Sehnen und deren potentieller Regenerationsfähigkeit bekannt. Farshad *et al.* (56) konnten nachweisen, dass künstlich losgelöste und retrahierte Sehnen nicht nur makroskopischen Veränderungen wie Sehnenverkürzung und Volumenverlust unterworfen sind, sondern auch mikroskopische Veränderungen aufweisen. So zeigten die nach einer Retraktionsphase nicht wieder refixierten Sehnen in dieser Studie eine verstärkte Kräuselung der Sehnenfasern im Vergleich zu den wieder refixierten Sehnen. Die Ergebnisse der Studie von Farshad *et al.* deuten an, dass eine Regeneration der Sehnendegeneration durch kontinuierliche Dehnung möglich sein könnte. In der vorliegenden Studie wurden zusätzlich zu der Sehnenkräuselung noch mehrere andere histologische Parameter (Zellzahl, Zellkernmorphologie, Vaskularität, Vorhandensein von chondroider Metaplasie, Proteoglykan- und Decoringehalt sowie Sehnenfaserparallelität) untersucht, um zusätzliche Informationen zu erhalten.

Wie bei allen qualitativen Bewertungssystemen lag die Schwachstelle des genutzten Scoringsystems sicher auch in dieser Studie in der Beständigkeit und Einschätzung der auswertenden Personen. Da die Übereinstimmung der Ergebnisse der beiden auswertenden Personen in dieser Studie bei 78% lag und 99% der unterschiedlich bewerteten Schnitte nur um 1 Scorepunkt differierten, kann hier aber von einer guten Kongruenz der Bewertungsergebnisse ausgegangen werden.

Wie nicht anders zu erwarten, waren sich die Werte der Tenotomiebiopsien (A-Biopsien) und die Werte der Euthanasie-Muskelbiopsien der kontralateralen Seiten

durchweg sehr ähnlich, da es sich in beiden Fällen um Biopsien normalen und gesunden Sehnengewebes handelte. Der sowohl in der gesamten (erfolgreich und erfolglos refixiert) Nandrolongruppe als auch in der IGF-Gruppe zu beobachtende statistisch signifikante Unterschied zwischen der weit höheren Zellzahl der operierten Muskeln zum Euthanasiezeitpunkt und der Zellzahl der A- bzw Dko-Biopsien, könnte an der Zellproliferation steigernden Wirkung der beiden Stoffe gelegen haben, wie sie auch für deren Wirkung auf Muskulatur beschrieben wurde (22,31,37-39). Gleiches könnte für die statistisch signifikant vermehrte Rundung der Zellkerne der Dop-Biopsien der IGF-Gruppe im Gegensatz zu den Dko-Biopsien dieser Gruppe gegolten haben. Da allerdings die Zellmorphologie der A-Biopsien dieser Gruppe der Zellmorphologie der Dop-Biopsien ähnelte, sollte diesem Unterschied nicht zu großes Gewicht beigemessen werden. Auch die restlichen Ergebnisse zeigten, dass das histologische Bild der erfolgreich refixierten Muskulatur den Referenzbiopsien ähnelte. War ein geringer Unterschied vorhanden, so war er meist bei den Dop-Sehnenbiopsien der erfolglos refixierten Muskeln grösser, als bei den erfolgreich refixierten Muskeln. Statistisch signifikante Unterschiede wurden in diesem Zusammenhang aber nicht deutlich, was auch daran gelegen haben könnte, dass auch bei diesen Muskeln bis zu einem gewissen Punkt eine Dehnung vorgenommen worden war.

Somit konnten diese Muskeln also nicht als völlig unbehandelte Kontrolle dienen. Tiere, bei denen kein Versuch der Muskeldehnung vorgenommen wurde, hätten in diesem Falle eine bessere Vergleichsgruppe gebildet.

Insgesamt schienen die Ergebnisse die von Farshad *et al.* (56) aufgezeigten Resultate zu unterstützen. Durch kontinuierliche Dehnung der Muskelsehneneinheit könnten sich die histologischen Charakteristika der retrahierten Sehnen den vor der Retraktion bestehenden Gegebenheiten wieder deutlich angenähert haben. Und dies stärker in den erfolgreich refixierten Gruppen, als in den nicht erfolgreich refixierten Gruppen. Allerdings konnte auf histologischer Ebene, keine signifikante Verbesserung der Resultate durch Applikation von Nanrolon Decanoas oder IGF-I festgestellt werden.

### **5.6 Auswertung von Muskelgewicht und Muskelvolumen**

Durch die Gewichts- und Volumenbestimmung der Mm. infraspinati konnte zusätzliche Information über das Ausmaß der durch die Retraktion verursachte Atrophie getroffen werden. Der Vergleich zwischen den gemessenen Werten der operierten und der Kontrollseite zeigte deutliche Gewichts- und Volumenunterschiede zugunsten der

Kontrollseite in allen drei Gruppen. Zwischen den Gruppen jedoch waren keine signifikanten Unterschiede festzustellen, was das allgemeine Bild unterstützte, dass weder lokal appliziertes Nandrolon Decanoas noch lokal appliziertes IGF-I eine deutliche Verbesserung der Muskelregeneration bewirkt hat. Eine Bestätigung der positiven Wirkung von kontinuierlicher Dehnung auf die Muskelregeneration gab die Tatsache, dass die erfolgreich refixierten Muskeln der Nandrolongruppe im Mittel ein statistisch signifikant höheres Gewicht aufwiesen, als die nicht erfolgreich refixierten Muskeln dieser Gruppe.

## **5.7 Körpergewicht der Schafe**

Da alle Tiere der Studie auch nach ihrem Gewicht ausgesucht worden waren, um sicher zu stellen, dass dieses keine Auswirkungen auf die Studie haben kann, war das ähnliche Körpergewicht zum Tenotomiezeitpunkt Voraussetzung. Allerdings war es aus organisatorischen Gründen nicht möglich, bei allen Tieren gleichzeitig mit der Studie zu beginnen. Die einzelnen Gruppen durchliefen die einzelnen Operationstermine somit zeitlich gestaffelt. Dies führte dazu, dass die Tiere der IGF-Gruppe zu ihrem Tenotomiezeitpunkt etwas älter waren, als die Tiere der Kontroll- und der Nandrolongruppe zum jeweils ihrigen. Diese Tatsache und die individuelle Futterverwertung der Einzeltiere kann für die Gewichtsunterschiede zu den einzelnen Operationsterminen verantwortlich gewesen sein. Da alle Tiere während der Retraktionsphase gleich behandelt wurden und auch noch keine Androgene oder Wachstumsfaktoren verabreicht wurden, war der statistisch signifikante Gewichtsunterschied am Tage der Implantationsoperation zwischen der Nandrolongruppe und der IGF-Gruppe auch nicht anders zu erklären. Der am Tage der Refixation immer noch bestehende signifikante Gewichtsunterschied zwischen diesen beiden Gruppen war geringer als der vom Tage der Implantation, sodass davon ausgegangen werden konnte, dass auch hier nicht der Einfluss des IGF-I verantwortlich war.

Hinzu kommt, dass sich die drei Gruppen in der Gewichtszunahme über den Gesamtzeitraum nicht wesentlich unterschieden. Weder lokal appliziertes Nandrolon Decanoas noch lokal appliziertes IGF-I führten somit in diesem Fall zu erhöhter Körpergewichtszunahme.



## 5.8 Schlussfolgerungen und Perspektiven

In der vorliegenden Studie wurde an einem Tiermodell versucht, durch kontinuierliche Dehnung und gleichzeitige lokale Applikation von Nandrolon Decanoas und IGF-I die nach Sehnenruptur eintretende Retraktion, Atrophie und Degeneration eines Muskels der Rotatorenmanschette (M. infraspinatus) aufzuhalten und reversibel zu machen mit Hinblick auf den in der Humanmedizin bedeutenden Stellenwert der chronischen Sehnenrisse im Bereich der Rotatorenmanschette. Gleichzeitig sollten die in einer Vorläuferstudie von Gerber *et al.* aufgetretene hohe Infektionsrate vermindert werden.

Bei 14 von 20 Tieren (70%) konnte nach erfolgreicher kontinuierlicher Dehnung auch eine erfolgreiche Refixation des M. infraspinatus an seinem ursprünglichen Insertionsort am T. majus vorgenommen werden. Bei den übrigen sechs Tieren war entweder die kontinuierliche Dehnung oder aber die Refixation der Infraspinatussehne nicht erfolgreich. Die Ursachen waren allerdings in keinem Fall in einer Infektion zu suchen, sondern lagen entweder am Ausreißen der Fäden aus dem Knochenfragment oder an der Ruptur der Sehne. Um diese Komplikationen in zukünftigen Studien zu verhindern, sollte über eine veränderte Fixation bzw. Nahttechnik nachgedacht werden, die zum einen ein Ausreißen der Fäden aus dem Knochenfragment noch besser verhindert und zum anderen die Sehne so wenig wie möglich in Mitleidenschaft zieht. Ebenso wäre eine Veränderung des Dehnungsapparates erstrebenswert, um eine stärkere Kontrolle über die kontinuierliche Dehnung zu haben und zu schnelle oder zu geringe Muskeldehnung zu vermeiden.

Obwohl Retraktion und Muskelatrophie in allen Gruppen gestoppt und teilweise reversibel gemacht und auch die Muskelarchitektur nahezu wieder hergestellt werden konnte, waren keine Unterschiede zwischen den mit Nandrolon Decanoas oder IGF-I behandelten Schafen und den Tieren der Kontrollgruppe festzustellen. Um die vielversprechenden Eigenschaften dieser beiden Stoffe vielleicht aber doch noch nutzbringend in diesem Rahmen einsetzen zu können, sollte überprüft werden, ob eine systemische Applikation bessere Erfolge erbringen könnte. Auch bestände die Möglichkeit die Applikation schon in der Retraktionsphase des Muskels zu beginnen und so vielleicht die Muskelretraktion und –atrophie schon so früh wie möglich zu beeinflussen. Die Auswertung der in dieser Arbeit nur am Rande erwähnten Kraftmessungen und Muskeldichtemessungen sowie der Muskelhistologie verspricht weitere wichtige Erkenntnisse zu dieser Thematik.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Milgrom C, Schaffler M, Gilbert S, van Holsbeeck M. Rotator-cuff changes in asymptomatic adults. The effect of age, hand dominance and gender. *J Bone Joint Surg Br.* 1995 Mar;77 (2):296-8.
2. Meyer DC, Hoppeler H, von Rechenberg B, Gerber C. A pathomechanical concept explains muscle loss and fatty muscular changes following surgical tendon release. *J Orthop Res.* 2004 Sep;22 (5):1004-7.
3. Gerber C, Meyer DC, Frey E, von Rechenberg B, Hoppeler H, Frigg R, et al. Neer Award 2007: Reversion of structural muscle changes caused by chronic rotator cuff tears using continuous musculotendinous traction. An experimental study in sheep. *J Shoulder Elbow Surg.* 2009 Mar-Apr;18 (2):163-71.
4. McFarland EG, Garzon-Muvdi J, dai Z, Desai aP. Advances in the Understanding and Treatment of Rotator Cuff disease. *European Musculoskeletal Review.* 2009 6 August 2009;4 (2):78-81.
5. JS Sher JU, A Posada, BJ Murphy and MB Zlatkin. Abnormal findings on magnetic resonance images of asymptomatic shoulders. *The Journal of Bone and Joint Surgery.* 1995;77 (1):10-5.
6. Harvie P, Ostlere SJ, Teh J, McNally EG, Clipsham K, Burston BJ, et al. Genetic influences in the aetiology of tears of the rotator cuff. Sibling risk of a full-thickness tear. *J Bone Joint Surg Br.* 2004 Jul;86 (5):696-700.
7. Gwilym SE, Watkins B, Cooper CD, Harvie P, Auplish S, Pollard TC, et al. Genetic influences in the progression of tears of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br.* 2009 Jul;91 (7):915-7.
8. Goutallier D, Postel JM, Bernageau J, Lavau L, Voisin MC. Fatty muscle degeneration in cuff ruptures. Pre- and postoperative evaluation by CT scan. *Clin Orthop Relat Res.* 1994 Jul (304):78-83.
9. Hersche O, Gerber C. Passive tension in the supraspinatus musculotendinous unit after long-standing rupture of its tendon: a preliminary report. *J Shoulder Elbow Surg.* 1998 Jul-Aug;7 (4):393-6.
10. Jozsa L, Kannus P, Thoring J, Reffy A, Jarvinen M, Kvist M. The effect of tenotomy and immobilisation on intramuscular connective tissue. A morphometric and microscopic study in rat calf muscles. *J Bone Joint Surg Br.* 1990 Mar;72 (2):293-7.
11. Safran O, Derwin KA, Powell K, Iannotti JP. Changes in rotator cuff muscle volume, fat content, and passive mechanics after chronic detachment in a canine model. *J Bone Joint Surg Am.* 2005 Dec;87 (12):2662-70.
12. Gerber C, Meyer DC, Schneeberger AG, Hoppeler H, von Rechenberg B. Effect of tendon release and delayed repair on the structure of the muscles of the rotator cuff: an experimental study in sheep. *J Bone Joint Surg Am.* 2004 Sep;86-A (9):1973-82.
13. Björkheim JM. Structure and function of the rabbit's supraspinatus muscle after resection of its tendon. *Acta Othop Scand.* 1989;60 (4):461-3.
14. Nakagaki K, Ozaki J, Tomita Y, Tamai S. Fatty degeneration in the supraspinatus muscle after rotator cuff tear. *J Shoulder Elbow Surg.* 1996 May-Jun;5 (3):194-200.

15. Meyer DC, Jacob HA, Nyffeler RW, Gerber C. In vivo tendon force measurement of 2-week duration in sheep. *J Biomech.* 2004 Jan;37 (1):135-40.
16. Rees JL. The pathogenesis and surgical treatment of tears of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br.* 2008 Jul;90 (7):827-32.
17. Nakagaki K, Ozaki J, Tomita Y, Tamai S. Function of supraspinatus muscle with torn cuff evaluated by magnetic resonance imaging. *Clin Orthop Relat Res.* 1995 Sep (318):144-51.
18. Fuchs B, Weishaupt D, Zanetti M, Hodler J, Gerber C. Fatty degeneration of the muscles of the rotator cuff: assessment by computed tomography versus magnetic resonance imaging. *J Shoulder Elbow Surg.* 1999 Nov-Dec;8 (6):599-605.
19. Gerber C, Schneeberger AG, Hoppeler H, Meyer DC. Correlation of atrophy and fatty infiltration on strength and integrity of rotator cuff repairs: a study in thirteen patients. *J Shoulder Elbow Surg.* 2007 Nov-Dec;16 (6):691-6.
20. Galatz LM, Ball CM, Teefey SA, Middleton WD, Yamaguchi K. The outcome and repair integrity of completely arthroscopically repaired large and massive rotator cuff tears. *J Bone Joint Surg Am.* 2004 Feb;86-A (2):219-24.
21. Harryman DT, 2nd, Mack LA, Wang KY, Jackins SE, Richardson ML, Matsen FA, 3rd. Repairs of the rotator cuff. Correlation of functional results with integrity of the cuff. *J Bone Joint Surg Am.* 1991 Aug;73 (7):982-9.
22. Florini JR, Ewton DZ, Magri KA. Hormones, growth factors, and myogenic differentiation. *Annu Rev Physiol.* 1991;53:201-16.
23. Tollefsen SE, Lajara R, McCusker RH, Clemmons DR, Rotwein P. Insulin-like growth factors (IGF) in muscle development. Expression of IGF-I, the IGF-I receptor, and an IGF binding protein during myoblast differentiation. *J Biol Chem.* 1989 Aug 15;264 (23):13810-7.
24. Hill M, Goldspink G. Expression and splicing of the insulin-like growth factor gene in rodent muscle is associated with muscle satellite (stem) cell activation following local tissue damage. *J Physiol.* 2003 Jun 1;549 (Pt 2):409-18.
25. Goldspink G, Wessner B, Bachl N. Growth factors, muscle function and doping. *Curr Opin Pharmacol.* 2008 Jun;8 (3):352-7.
26. Yang H, Alnaqeeb M, Simpson H, Goldspink G. Changes in muscle fibre type, muscle mass and IGF-I gene expression in rabbit skeletal muscle subjected to stretch. *J Anat.* 1997 May;190 ( Pt 4):613-22.
27. Grounds MD. Reasons for the degeneration of ageing skeletal muscle: a central role for IGF-1 signalling. *Biogerontology.* 2002;3 (1-2):19-24.
28. Adams GR, McCue SA. Localized infusion of IGF-I results in skeletal muscle hypertrophy in rats. *J Appl Physiol.* 1998 May;84 (5):1716-22.
29. Barton-Davis ER, Shoturma DI, Musaro A, Rosenthal N, Sweeney HL. Viral mediated expression of insulin-like growth factor I blocks the aging-related loss of skeletal muscle function. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Dec 22;95 (26):15603-7.
30. Ates K, Yang SY, Orrell RW, Sinanan AC, Simons P, Solomon A, et al. The IGF-I splice variant MGF increases progenitor cells in ALS, dystrophic, and normal muscle. *FEBS Lett.* 2007 Jun 12;581 (14):2727-32.

31. Perrone CE, Fenwick-Smith D, Vandeburgh HH. Collagen and stretch modulate autocrine secretion of insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor binding proteins from differentiated skeletal muscle cells. *J Biol Chem*. 1995 Feb 3;270 (5):2099-106.
32. Bhasin S, Storer TW, Berman N, Callegari C, Clevenger B, Phillips J, et al. The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. *N Engl J Med*. 1996 Jul 4;335 (1):1-7.
33. Bross R, Storer T, Bhasin S. Aging and Muscle Loss. *Trends Endocrinol Metab*. 1999 Jul;10 (5):194-8.
34. Ferrando AA, Sheffield-Moore M, Yeckel CW, Glickson C, Jiang J, Achacosa A, et al. Testosterone administration to older men improves muscle function: molecular and physiological mechanisms. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002 Mar;282 (3):E601-7.
35. Ferrando AA, Tipton KD, Doyle D, Phillips SM, Cortiella J, Wolfe RR. Testosterone injection stimulates net protein synthesis but not tissue amino acid transport. *Am J Physiol*. 1998 Nov;275 (5 Pt 1):E864-71.
36. Sheffield-Moore M, Urban RJ, Wolf SE, Jiang J, Catlin DH, Herndon DN, et al. Short-term oxandrolone administration stimulates net muscle protein synthesis in young men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Aug;84 (8):2705-11.
37. Joubert Y, Tobin C. Satellite cell proliferation and increase in the number of myonuclei induced by testosterone in the levator ani muscle of the adult female rat. *Dev Biol*. 1989 Feb;131 (2):550-7.
38. Sinha-Hikim I, Cornford M, Gaytan H, Lee ML, Bhasin S. Effects of testosterone supplementation on skeletal muscle fiber hypertrophy and satellite cells in community-dwelling older men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Aug;91 (8):3024-33.
39. Sinha-Hikim I, Roth SM, Lee MI, Bhasin S. Testosterone-induced muscle hypertrophy is associated with an increase in satellite cell number in healthy, young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003 Jul;285 (1):E197-205.
40. Chen Y, Zajac JD, MacLean HE. Androgen regulation of satellite cell function. *J Endocrinol*. 2005 Jul;186 (1):21-31.
41. Preston RL. Hormone containing growth promoting implants in farmed livestock. *Adv Drug Deliv Rev*. 1999 Jul 26;38 (2):123-38.
42. Fritzsche D, Krakor R, Asmussen G, Lange S, Kaufmann A, Zapf P, et al. Effect of an anabolic steroid (Metenolon) on contractile performance of the chronically stimulated latissimus dorsi in sheep. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1994;8 (4):214-9.
43. Egermann M, Goldhahn J, Schneider E. Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2005 Mar;16 Suppl 2:S129-38.
44. Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater*. 2007;13:1-10.
45. Schneeberger AG, Nyffeler RW, Gerber C. Structural changes of the rotator cuff caused by experimental subacromial impingement in the rat. *J Shoulder Elbow Surg*. 1998 Jul-Aug;7 (4):375-80.
46. Simard CP, Spector SA, Edgerton VR. Contractile properties of rat hind limb muscles immobilized at different lengths. *Exp Neurol*. 1982 Sep;77 (3):467-82.

47. Tomanek RJ, Cooper RR. Ultrastructural changes in tenotomized fast- and slow-twitch muscle fibres. *J Anat.* 1972 Dec;113 (Pt 3):409-24.
48. Gerber C, Schneeberger AG, Perren SM, Nyffeler RW. Experimental rotator cuff repair. A preliminary study. *J Bone Joint Surg Am.* 1999 Sep;81 (9):1281-90.
49. Farshad M, Meyer DC, Nuss KM, Gerber C. A modified rabbit model for rotator cuff tendon tears: functional, histological and radiological characteristics of the supraspinatus muscle. submitted. 2011.
50. Soslowsky LJ, Carpenter JE, DeBano CM, Banerji I, Moalli MR. Development and use of an animal model for investigations on rotator cuff disease. *J Shoulder Elbow Surg.* 1996 Sep-Oct;5 (5):383-92.
51. Schlemmer I. Experimentelle, schrittweise Reversion von fettiger Muskeldegeneration und Retraktion bei chronischer experimenteller Sehnenruptur beim Schaf. Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich. 2007.
52. Nunamaker DM. Experimental models of fracture repair. *Clin Orthop Relat Res.* 1998 Oct (355 Suppl):S56-65.
53. Fink B, Braunstein S, Singer J. Behavior of tendons during lower-leg lengthening in dogs using the ilizarov method. *J Pediatr Orthop.* 1999 (19):380-5.
54. Fink B, Schwinger G, Singer J, al. e. Biomechanical properties of tendons during lower-leg lengthening in dogs using the ilizarov method. *J Biomech.* 1999 (32):763-8.
55. Szoke G, Lee S, Simpson A, al. e. Response of the tendon during limb lengthening. *J Bone Joint Surg Br.* 2005 (87):583-7.
56. Farshad M, Gerber C, Snedeker JG, Frauenfelder T, Meyer DM. Structure of retracted tendons after staged repair following continuous traction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011 Dec;19(12):2131-7.

## 7 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
bzw.	Beziehungsweise
cm	Zentimeter
CT	Computertomographie bzw. Computertomographische Untersuchung
Hz	Hertz
IGF	Insulin-like growth factor
i.m.	Intramuskulär
I.U.	Internationale Einheiten
i.v.	Intravenös
mA	Milliampere
mm	Millimeter
MRT	Magnetresonanztomographie bzw. Magnetresonanztomograph
µs	Mikrosekunde
N	Newton
Op	Operation
p.o.	per os
s.c.	Subcutan
Tab.	Tabelle

## 8 Anhang

### 8.1 Abbildungen

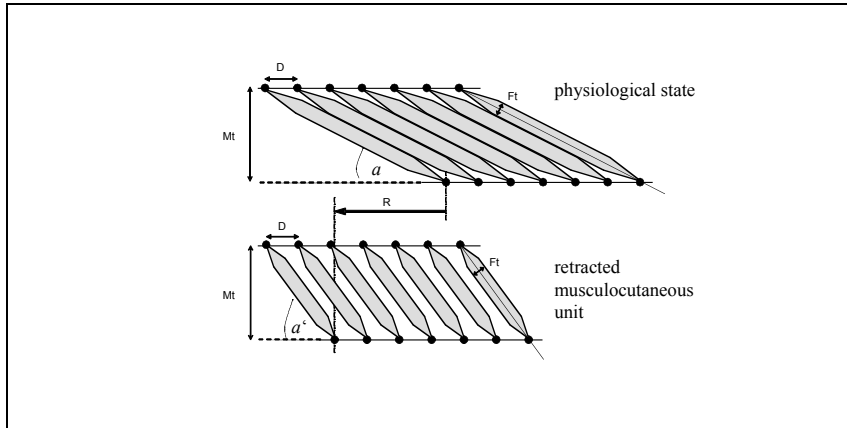


Abb. 1: Veränderung der Fiederungswinkel nach Meyer *et al.* (2)

Durch Muskelretraktion vergrößern sich die Fiederungswinkel ( $\alpha, \beta$ ) und die durchschnittliche Muskelfaserlänge verringert sich. Die Vergrößerung der Fiederungswinkel trennt die Muskelfasern und öffnet einen Zwischenraum zwischen den Fasern

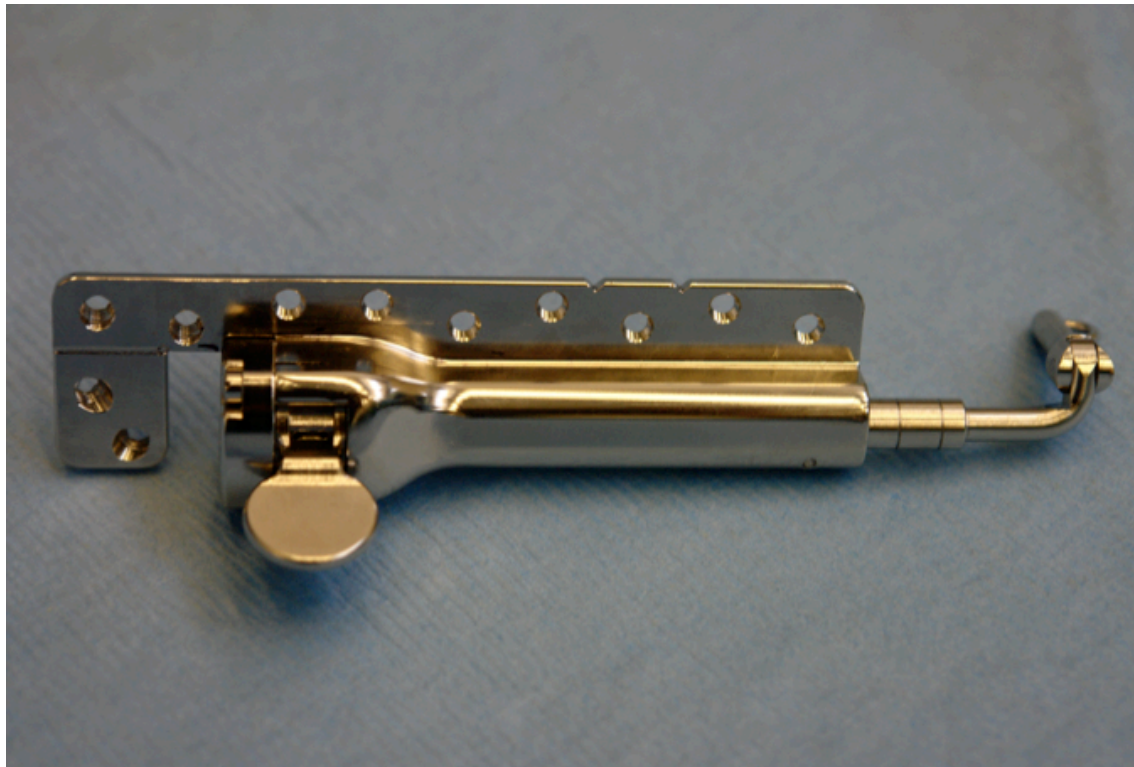
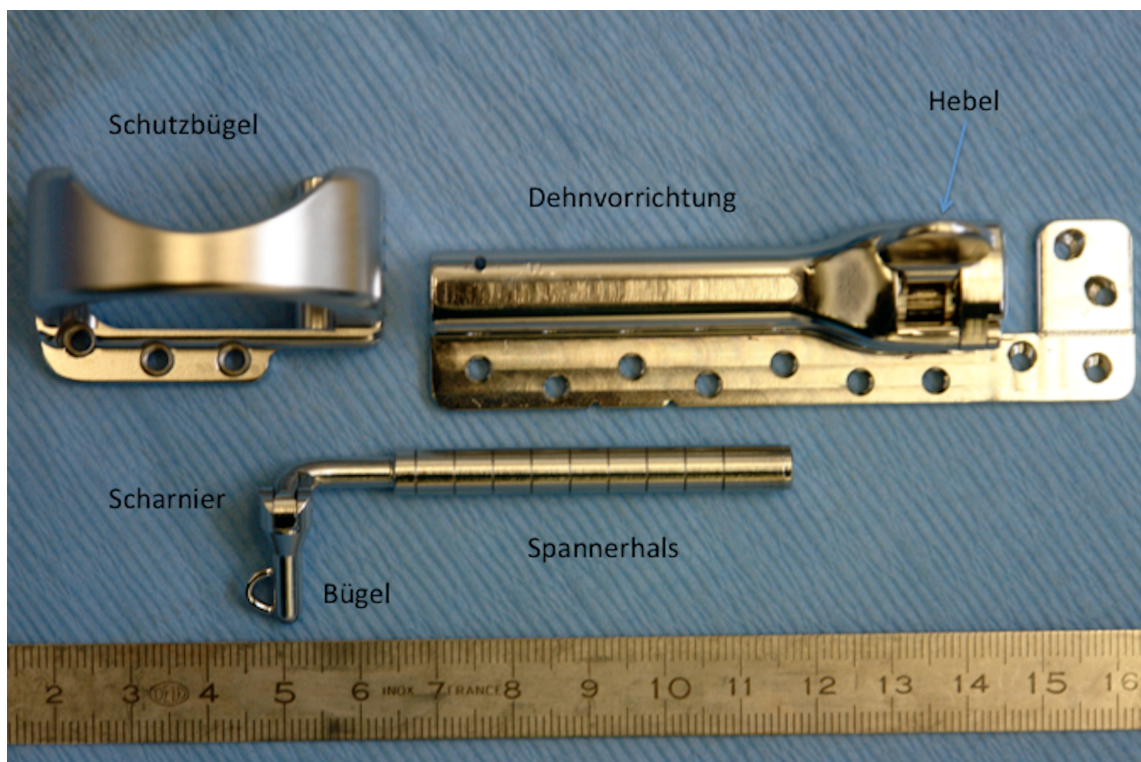
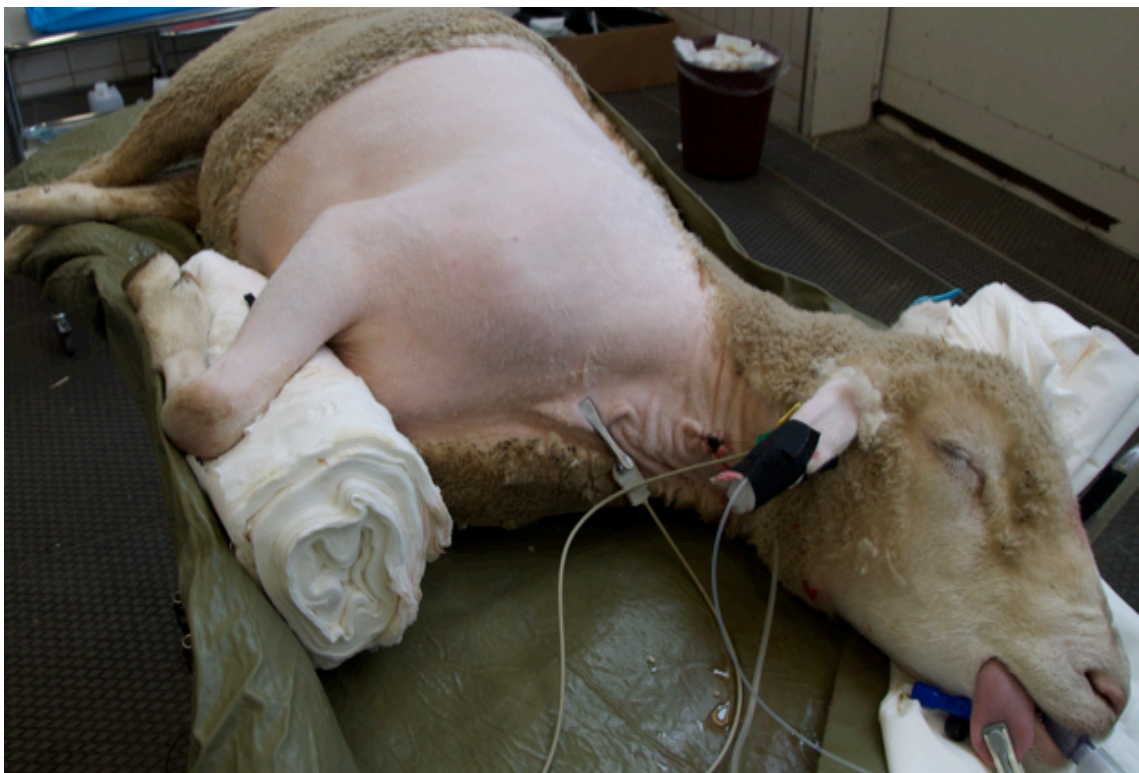


Abb. 2: Der Dehnungsapparat



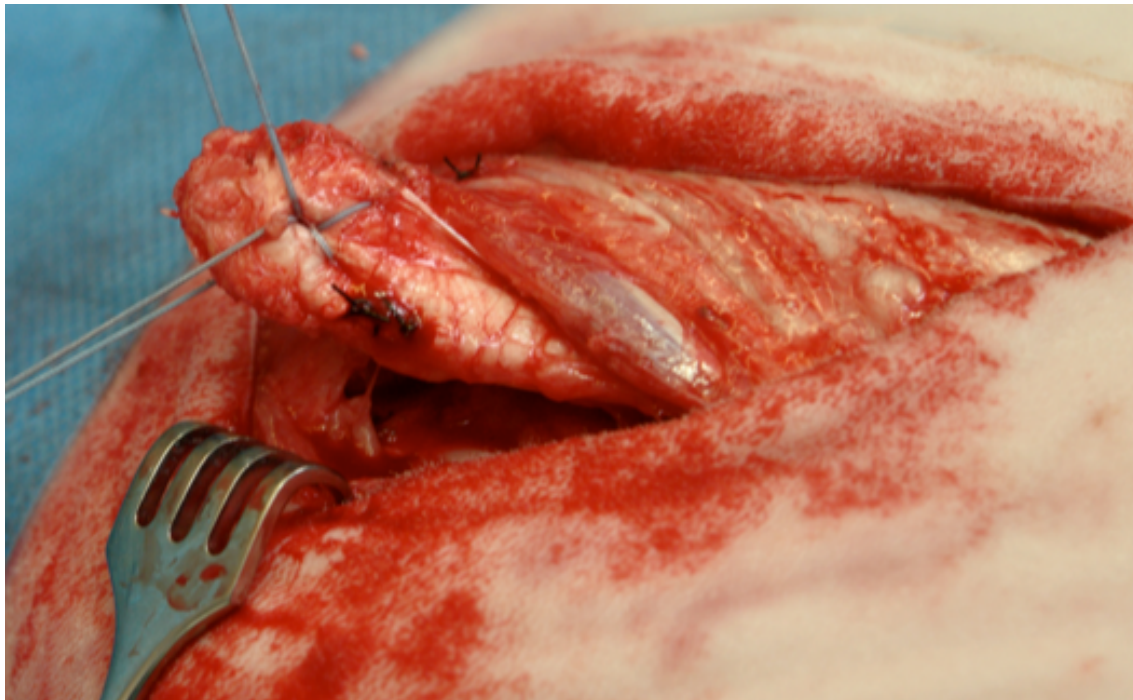


**Abb. 3: Der Dehnungsapparat in Einzelteilen**

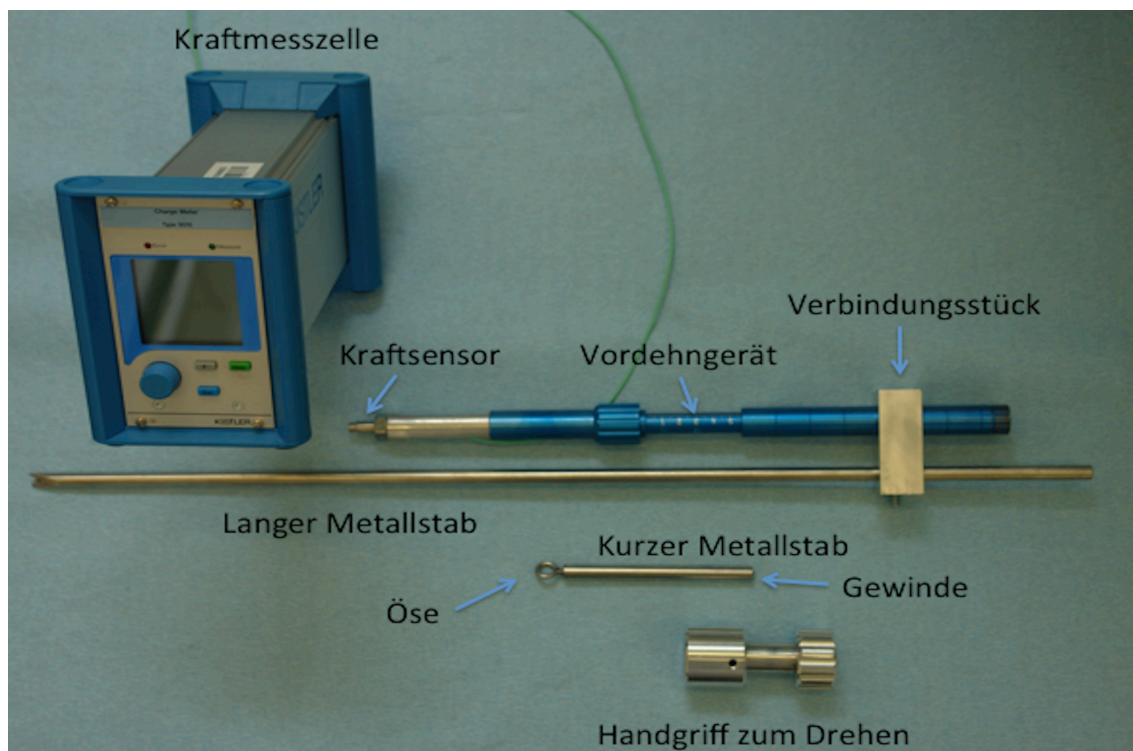


**Abb. 4: Lagerung der Schafe für die Operation**

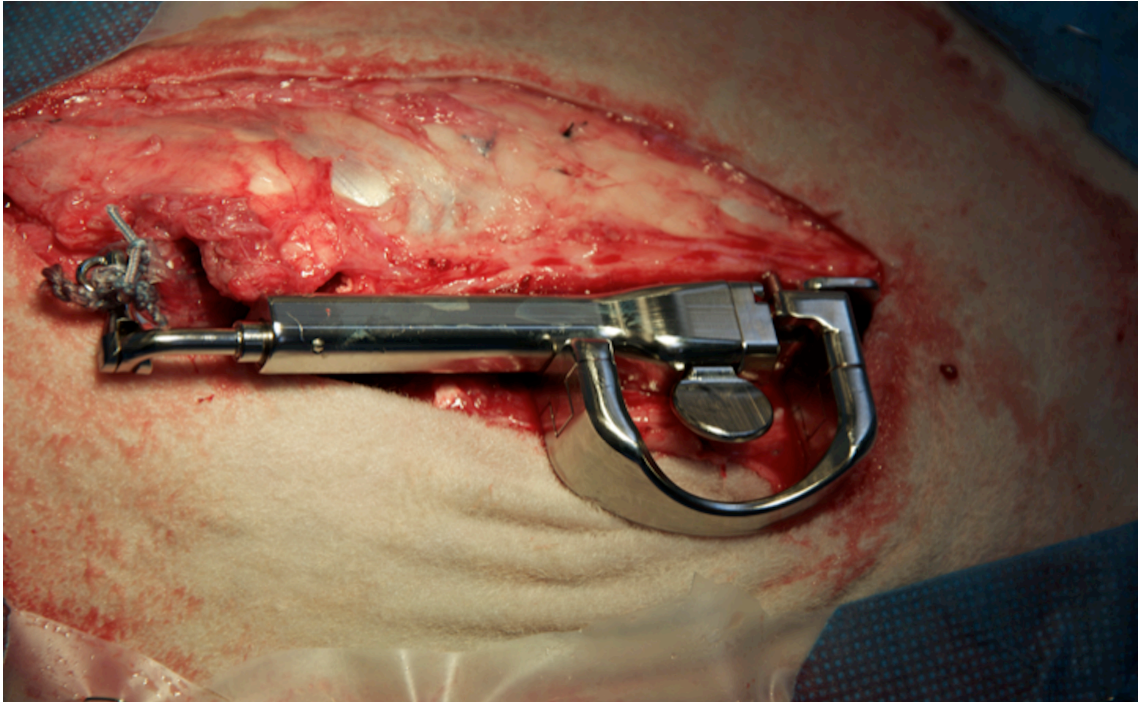




**Abb. 5: Nahttechnik zur Fixierung der FiberWire am Knochenfragment**



**Abb. 6: Messgerät in seinen Einzelteilen**



**Abb. 7: An der Spina scapulae implantierter Dehnungsapparat mit Schutzbügel**



**Abb. 8: Schaf im Hängesystem; unter der rechten Vordergliedmaße befindet sich ein mit einem Verband befestigter halber Gummiball, um das Fußes mit voller Belastung auf dieser Gliedmaße zu verhindern.**





Abb. 9: Lagerung der Schafe für die Computertomographie

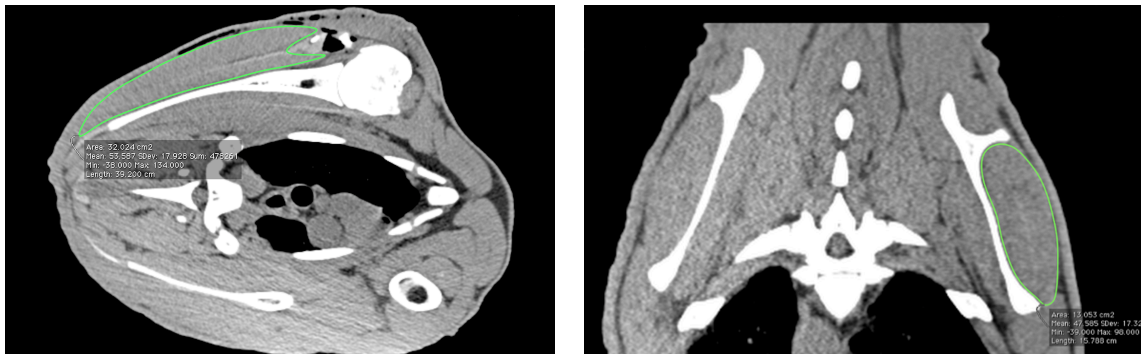


Abb. 10: Muskelflächenmessung mit Hilfe CT zum Zeitpunkt der Tenotomie. Links im Sagittalschnitt, rechts im Coronarschnitt. Der M. infraspinatus ist jeweils umrandet.

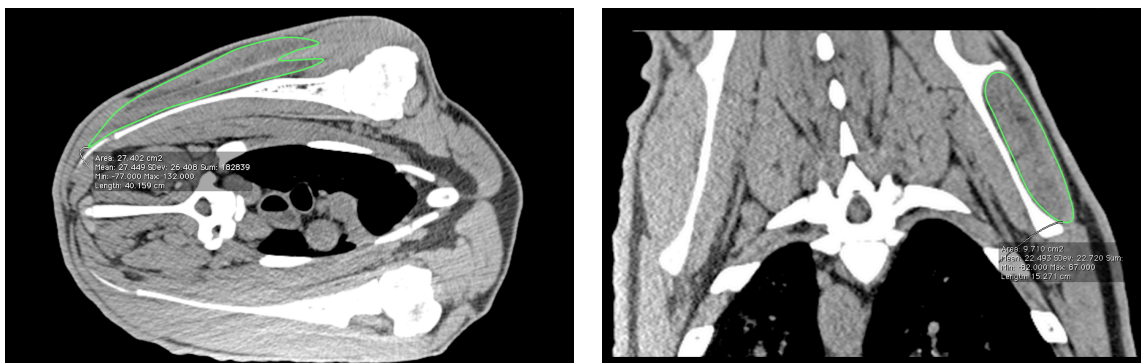
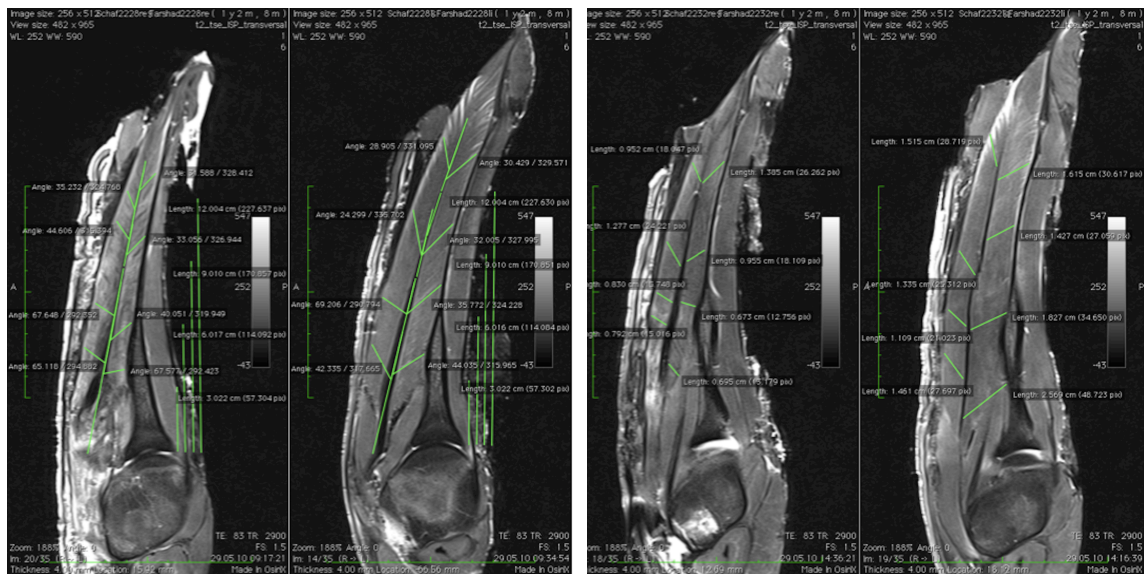
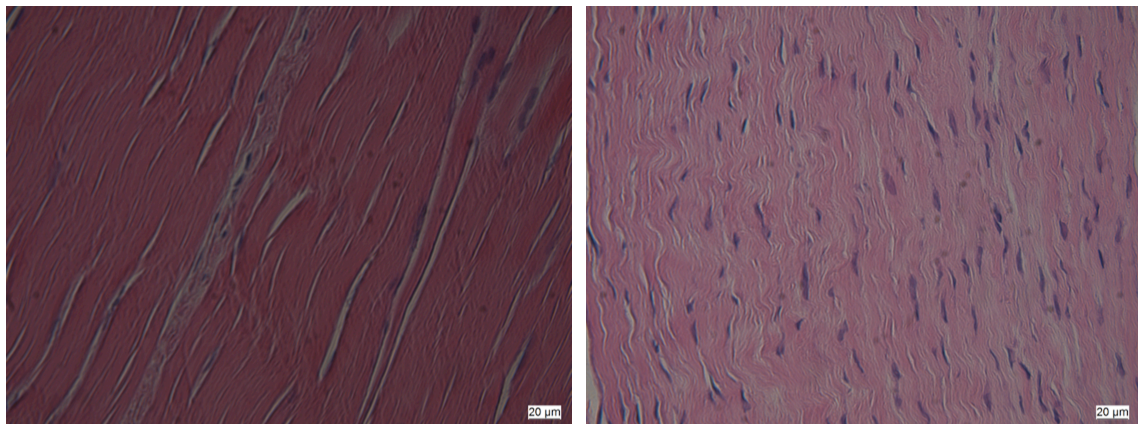


Abb. 11: Muskelflächenmessung mit Hilfe CT zum Zeitpunkt der Implantation des Dehnungsapparates. Links im Sagittalschnitt, rechts im Coronarschnitt. Der M. infraspinatus ist jeweils umrandet.

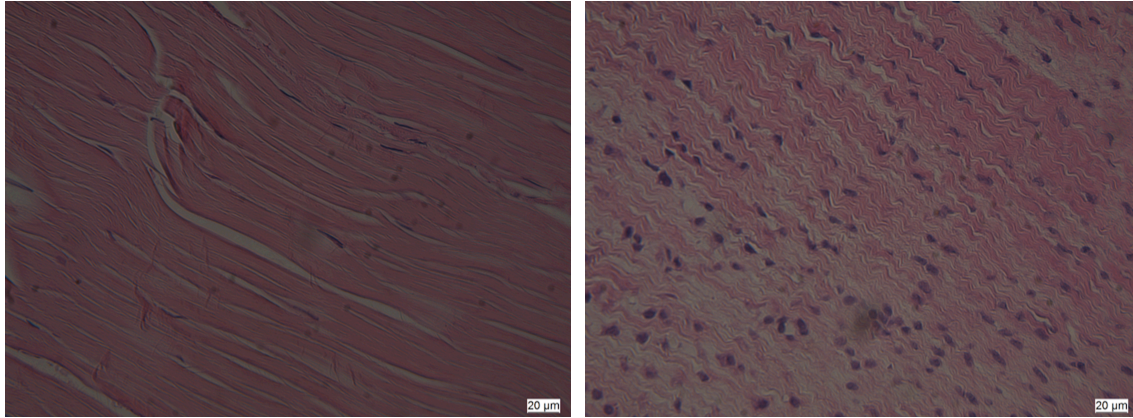


**Abb. 12: Messung der Fiederungswinkel (links) und Muskelfaserlängen (rechts) mittels MRT.** Jeweils links im Bild sind die operierten Seiten und jeweils rechts im Bild sind die kontralateralen Seiten abgebildet.

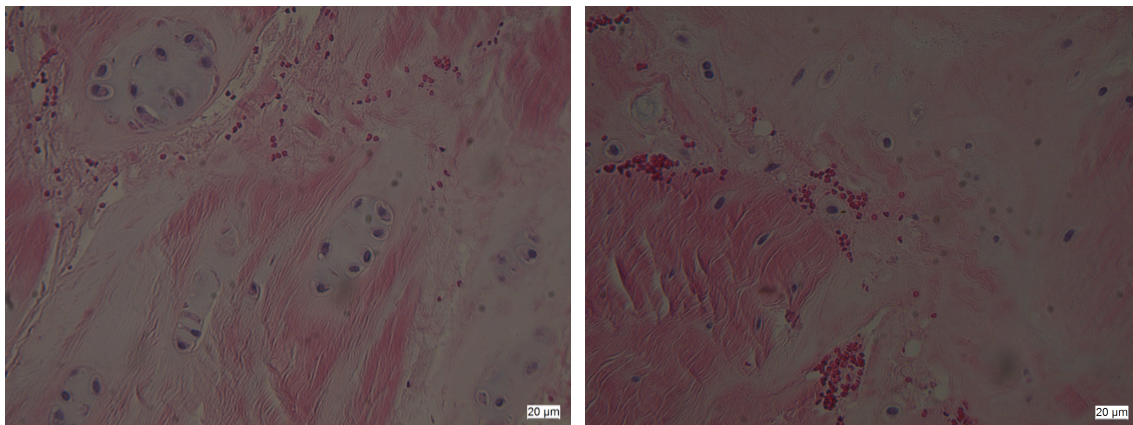


**Abb. 13: Histologieschnitte HE-Färbung 20-fache Vergrößerung. Links ein Gesichtsfeld mit weniger als 50 Tenozytenkernen, nach dem Wertungssystem wurden hier 0 Punkte vergeben. Rechts ein Gesichtsfeld mit über 150 Tenozytenkernen, nach dem Wertungssystem wurden hier 3 Punkte vergeben.**

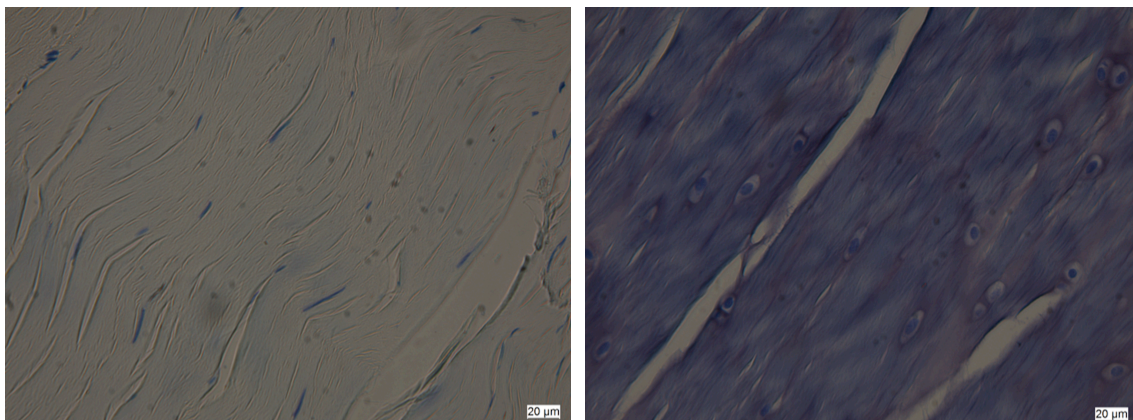




**Abb. 14: Histologieschnitte HE-Färbung 20-fache Vergrößerung. Links ein Gesichtsfeld mit spindelförmigen Zellkernen, nach dem Wertungssystem wurden hier 0 Punkte vergeben. Rechts ein Gesichtsfeld mit runden Zellkernen, nach dem Wertungssystem wurden hier 3 Punkte vergeben.**

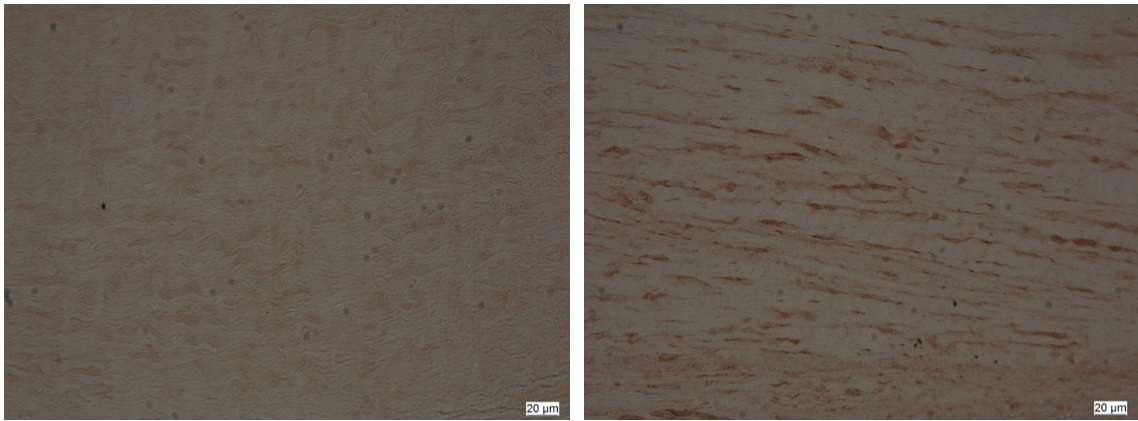


**Abb. 15: Histologieschnitte HE-Färbung 20-fache Vergrößerung. Zwei Beispiele für chondroide Metaplasie.**

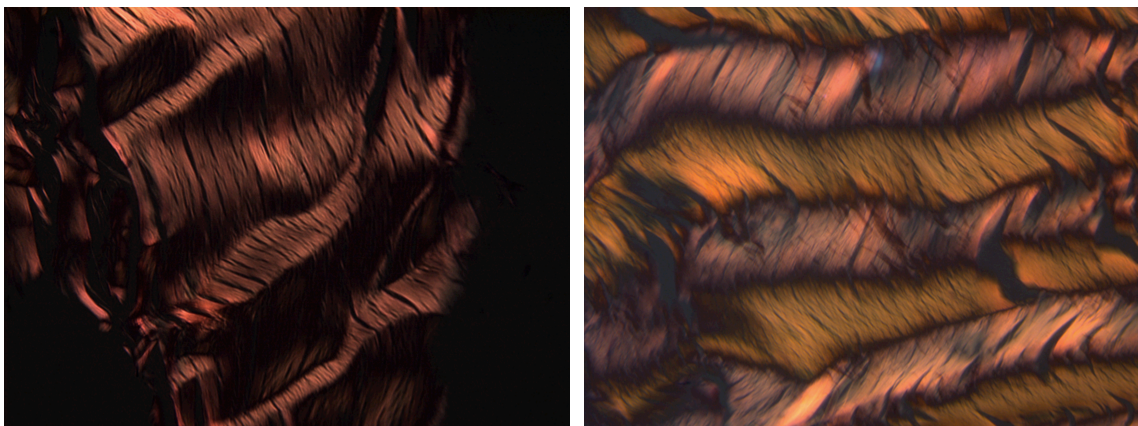


**Abb. 16: Histologieschnitte Toluidinblau-Färbung 20-fache Vergrößerung. Links ein Gesichtsfeld mit sehr schwacher Anfärbung, hier wurden nach dem Wertungssystem 0 Punkte vergeben. Rechts ein Gesichtsfeld mit sehr starker Anfärbung, hier wurden nach dem Wertungssystem 3 Punkte vergeben.**

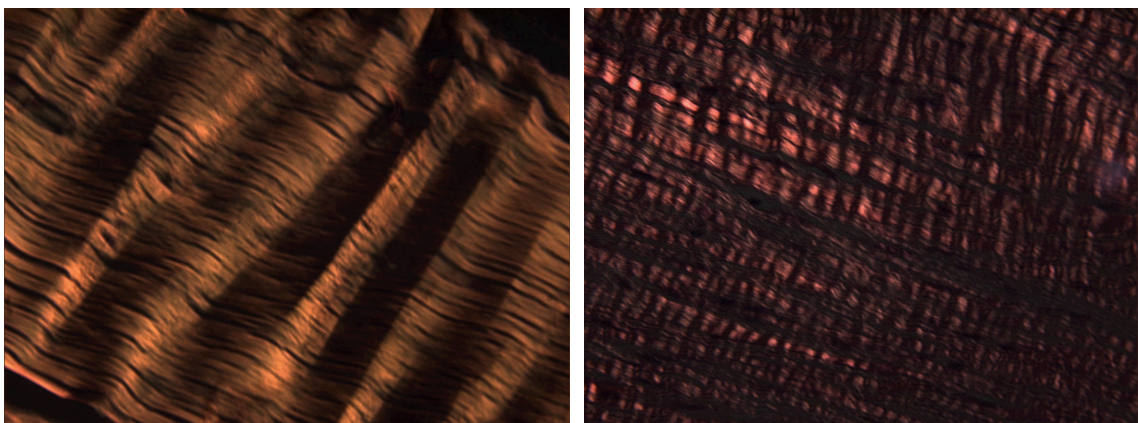




**Abb. 17: Histologieschnitte Decorin-Färbung 20-fache Vergrößerung. Links ein Gesichtsfeld mit sehr schwacher Anfärbung, hier wurden nach dem Wertungssystem 0 Punkte vergeben. Rechts ein Gesichtsfeld mit deutlicher Anfärbung, hier wurden nach dem Wertungssystem 2 Punkte vergeben.**



**Abb. 18: Histologieschnitte HE-Färbung 20-fache Vergrößerung; Polarisationsmikroskop. Links ein Schnitt mit Wellenlängen zwischen 150 und 200 µm (0 Punkte im Wertungssystem), rechts ein Schnitt mit Wellenlängen zwischen 100 und 150 µm (1 Punkt im Wertungssystem).**



**Abb. 19: Histologieschnitt HE-Färbung 20-fache Vergrößerung; Polarisationsmikroskop. Links ein Schnitt mit Wellenlängen zwischen 50 und 100 µm (2 Punkte im Wertungssystem), rechts ein Schnitt mit Wellenlängen unter 50 µm (3 Punkte im Wertungssystem).**

## 8.2 Tabellen

**Tab. 1: Stadien der fettigen Infiltration nach Goutallier et al. modifiziert von Gerber et al.**

GRAD	HOUNDSFIELD UNITS	MUSKELFETTGEHALT IN %	GEWEBEANTEILE
0	>50 HU	<10%	Normales Muskelgewebe
1	35-49 HU	11-30%	Muskelgewebe mit wenigen Fetteinlagerungen
2	25-34 HU	30-45%	Deutliche fettige Infiltration, aber noch größerer Muskelgewebsanteil als Fettgewebsanteil
3	15-24 HU	45-55%	Muskel- und Fettgewebsanteil sind gleich groß
4	<14 HU	>55%	Mehr Fettgewebe als Muskelgewebe

**Tab. 2: Wertungssystem für die Zellzahl pro Gesichtsfeld (drei Gesichtsfelder wurden ausgezählt)**

0	0 - 50 Zellkerne
1	50 - 100 Zellkerne
2	100 - 150 Zellkerne
3	> 150 Zellkerne

**Tab. 3: Wertungssystem für die Zellmorphologie (drei Gesichtsfelder wurden betrachtet)**

0	Der Großteil der Zellkerne ist sehr schmal und deutlich spindelförmig
1	Der Großteil der Zellkerne ist leicht verbreitert aber noch immer spindelförmig
2	Der Großteil der Zellkerne ist verbreitert und nicht mehr spindelförmig
3	Der Großteil der Zellkerne hat eine runde dicke Form angenommen

**Tab. 4: Wertungssystem für die Vaskularität (drei Gesichtsfelder wurden ausgezählt)**

0	kein Gefäß
1	1 - 3 Gefäße
2	4 - 6 Gefäße
3	> 7 Gefäße

**Tab. 5: Wertungssystem für die durchschnittliche Wellenlänge der Sehnenfasern**

0	150 – 200 µm
1	100 – 149 µm
2	50 – 99 µm
3	< 50 µm

**Tab. 6: Wertungssystem für die Sehnenfaserausrichtung**

0	75 - 100% der Sehnenfasern verlaufen parallel
1	50 - 75% der Sehnenfasern verlaufen parallel
2	25 - 50% der Sehnenfasern verlaufen parallel
3	0 - 25% der Sehnenfasern verlaufen parallel

**Tab. 7: Sehnenretraktion der erfolgreich refixierten Muskeln in cm**

	KONTROLLGRUPPE	IGF-GRUPPE	NANDROLONGGRUPPE
Tenotomie	2.4 ± 0.9	3.2 ± 0.4	1.6 ± 1.3
Implantation	4.8 ± 1.8	4.9 ± 0.8	4.2 ± 1.1
Refixation	3.5 ± 2.2	4.2 ± 0.6	3.3 ± 1.5
Euthanasie	3.7 ± 2.8	5.3 ± 0.5	3.2 ± 2.4

**Tab. 8: Muskelretraktion der erfolgreich refixierten Muskeln in cm**

	KONTROLLGRUPPE	IGF-GRUPPE	NANDROLONGGRUPPE
Tenotomie	4.4 ± 0.7	3.8 ± 0.4	3.5 ± 0.8
Implantation	5.0 ± 1.0	4.6 ± 0.8	4.7 ± 0.7
Refixation	4.4 ± 1.5	3.9 ± 0.8	3.8 ± 0.7
Euthanasie	4.6 ± 1.7	4.8 ± 0.9	4.4 ± 0.7

**Tab. 9: Muskelfläche der erfolgreich refixierten Muskeln im sagittalen CT-Bild in cm<sup>2</sup>**

	KONTROLLGRUPPE	IGF-GRUPPE	NANDROLONGGRUPPE
Tenotomie	33.5 ± 1.3	31.5 ± 2.4	32.8 ± 5.4
Implantation	24.8 ± 4.1	22.7 ± 4.4	23.5 ± 5.7
Refixation	24.5 ± 2.6	25 ± 1.8	24.8 ± 2.6
Euthanasie	25.8 ± 1.7	23.2 ± 2.4	26.3 ± 3.4

**Tab. 10: Muskelfläche der erfolgreich refixierten Muskeln im coronaren CT-Bild in cm<sup>2</sup>**

	KONTROLLGRUPPE	IGF-GRUPPE	NANDROLONGGRUPPE
Tenotomie	11.3 ± 1.9	10.7 ± 0.5	10.8 ± 1.7
Implantation	7.8 ± 1.0	8.2 ± 0.8	7.5 ± 1.7
Refixation	6.8 ± 1.0	7.7 ± 0.5	7.5 ± 1.7
Euthanasie	8.5 ± 0.6	8.3 ± 1.4	8.0 ± 1.4

**Tab. 11: Sehnenretraktion der nicht erfolgreich refixierten Muskeln in cm**

	KONTROLLGRUPPE	NANDROLONGGRUPPE
Tenotomie	2.6 ± 0.3	2.5 ± 0.1
Implantation	3.4 ± 0.6	4.0 ± 0.6
Refixation	4.9 ± 1.1	3.9 ± 1.8
Euthanasie	5.0 ± 1.0	5.7 ± 0.7



**Tab. 12: Muskelretraktion der nicht erfolgreich refixierten Muskeln in cm**

	KONTROLLGRUPPE	NANDROLONGRUPPE
Tenotomie	3.3 ± 0.8	2.6 ± 0.7
Implantation	4.6 ± 0.2	4.4 ± 0.3
Refixation	4.3 ± 0.2	3.5 ± 1.2
Euthanasie	4.3 ± 1.1	5.0 ± 0.7

**Tab. 13: Muskelfläche der nicht erfolgreich refixierten Muskeln im sagittalen CT-Bild in cm<sup>2</sup>**

	KONTROLLGRUPPE	NANDROLONGRUPPE
Tenotomie	30.3 ± 3.1	29.7 ± 3.5
Implantation	26.7 ± 2.5	22.3 ± 5.5
Refixation	21.0 ± 3.5	21.7 ± 2.9
Euthanasie	24.0 ± 4.6	22.0 ± 3.6

**Tab. 14: Muskelfläche der nicht erfolgreich refixierten Muskeln im coronaren CT-Bild in cm<sup>2</sup>**

	KONTROLLGRUPPE	NANDROLONGRUPPE
Tenotomie	11.7 ± 0.6	11.7 ± 1.5
Implantation	9.0 ± 1.0	7.7 ± 1.5
Refixation	8.0 ± 0.0	7.3 ± 1.2
Euthanasie	8.7 ± 0.6	8.3 ± 1.2

**Tab. 15: Fiederungswinkel der erfolgreich refixierten Mm. infraspinati**

		KONTROLL-GRUPPE		IGF-GRUPPE		NANDROLON-GRUPPE	
		Op-Seite	Kontroll-seite	Op-Seite	Kontroll-seite	Op-Seite	Kontroll-seite
Winkel° bei 3 cm	oberflächlich	71 ± 10	37 ± 02	68 ± 14	37 ± 06	59 ± 06	37 ± 07
	tief	77 ± 32	36 ± 04	89 ± 25	35 ± 08	79 ± 36	41 ± 03
Winkel° bei 6 cm	oberflächlich	65 ± 12	40 ± 04	61 ± 09	35 ± 05	50 ± 19	40 ± 05
	tief	73 ± 32	35 ± 05	90 ± 27	32 ± 10	60 ± 29	40 ± 04
Winkel° bei 9 cm	oberflächlich	46 ± 14	41 ± 08	47 ± 06	34 ± 03	40 ± 07	33 ± 07
	tief	62 ± 29	34 ± 07	56 ± 14	28 ± 08	35 ± 10	34 ± 05
Winkel° bei 12 cm	oberflächlich	45 ± 09	28 ± 13	38 ± 07	25 ± 07	30 ± 08	25 ± 07
	tief	35 ± 06	31 ± 05	33 ± 11	26 ± 03	27 ± 04	34 ± 05

**Tab. 16: Muskelfaserlängen der erfolgreich refixierten Mm. infraspinati in mm sowie der Muskeldurchmesser in cm**

		KONTROLLGRUPPE		IGF-GRUPPE		NANDROLONGGRUPPE	
		Op-Seite	Kontroll-seite	Op-Seite	Kontroll-seite	Op-Seite	Kontroll-seite
Muskelfaserlänge bei 3 cm	oberflächlich	1.0 ± 0.2	1.7 ± 0.4	1.0 ± 0.1	1.7 ± 0.4	1.0 ± 0.3	1.4 ± 0.2
	tief	1.1 ± 0.2	1.9 ± 0.3	0.8 ± 0.2	1.6 ± 0.4	0.9 ± 0.2	1.8 ± 0.5
Muskelfaserlänge bei 6 cm	oberflächlich	1.2 ± 0.3	1.6 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.8 ± 0.3	1.2 ± 0.5	1.1 ± 0.2
	tief	0.9 ± 0.1	1.8 ± 0.2	0.8 ± 0.1	1.9 ± 0.4	0.9 ± 0.2	1.7 ± 0.2
Muskelfaserlänge bei 9 cm	oberflächlich	1.0 ± 0.3	1.4 ± 0.3	1.0 ± 0.1	1.6 ± 0.4	1.3 ± 0.3	1.7 ± 0.3
	tief	0.8 ± 0.2	1.6 ± 0.3	0.8 ± 0.2	1.8 ± 0.3	1.0 ± 0.2	1.5 ± 0.2
Muskelfaserlänge bei 12 cm	oberflächlich	0.8 ± 0.2	1.4 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.5 ± 0.3	1.0 ± 0.2	1.4 ± 0.3
	tief	1.0 ± 0.2	1.5 ± 0.4	1.0 ± 0.5	1.7 ± 0.3	1.3 ± 0.5	1.7 ± 0.1
Muskeldicke		2.5 ± 0.3	3.0 ± 0.2	2.4 ± 0.2	3.1 ± 0.3	2.3 ± 0.3	2.9 ± 0.3

**Tab. 17: Fiederungswinkel der nicht erfolgreich refixierten Mm. infraspinati**

		KONTROLLGRUPPE		NANDROLONGGRUPPE	
		Op-Seite	Kontrollseite	Op-Seite	Kontrollseite
Winkel bei 3 cm	oberflächlich	64 ± 08	42 ± 05	78 ± 06	38 ± 04
	tief	96 ± 14	36 ± 06	93 ± 23	34 ± 03
Winkel bei 6 cm	oberflächlich	68 ± 12	36 ± 19	58 ± 14	37 ± 03
	tief	87 ± 09	37 ± 02	89 ± 32	35 ± 07
Winkel bei 9 cm	oberflächlich	45 ± 12	35 ± 14	43 ± 08	36 ± 02
	tief	65 ± 25	32 ± 02	37 ± 06	37 ± 08
Winkel bei 12 cm	oberflächlich	37 ± 09	30 ± 07	39 ± 10	23 ± 12
	tief	32 ± 06	30 ± 08	33 ± 10	32 ± 13

**Tab. 18: Muskelfaserlängen der nicht erfolgreich refixierten Mm. infraspinati in mm sowie der Muskeldurchmesser in cm**

		KONTROLLGRUPPE		NANDROLONGGRUPPE	
		Op-Seite	Kontrollseite	Op-Seite	Kontrollseite
Muskelfaserlänge bei 3 cm	oberflächlich	0.9 ± 0.3	1.5 ± 0.0	0.8 ± 0.2	2.1 ± 0.0
	tief	1.0 ± 0.1	1.4 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.9 ± 0.1
Muskelfaserlänge bei 6 cm	oberflächlich	1.0 ± 0.2	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.5	1.8 ± 0.2
	tief	1.0 ± 0.3	1.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.5 ± 0.4
Muskelfaserlänge bei 9 cm	oberflächlich	1.1 ± 0.2	1.6 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.5 ± 0.4
	tief	1.0 ± 0.1	1.7 ± 0.3	0.9 ± 0.1	1.6 ± 0.2
Muskelfaserlänge bei 12 cm	oberflächlich	0.8 ± 0.2	1.8 ± 0.7	1.0 ± 0.4	1.0 ± 0.4
	tief	1.1 ± 0.1	1.8 ± 0.4	1.2 ± 0.2	2.0 ± 0.3
Muskeldicke		2.3 ± 0.2	2.6 ± 0.1	2.4 ± 0.2	3.2 ± 0.3

**Tab. 19: Ergebnisse der Sehnenbewertung mittels des Wertungssystems der Tiere mit fehlgeschlagener Refixation; Mittelwerte und Standardabweichungen zum Zeitpunkt der Tenotomie und der Euthanasie sowie der Kontrollseite am Euthanasiezeitpunkt.**

		KONTROLL-GRUPPE	NANDROLONGRUPPE
Zellzahl	Tenotomie	$0.83 \pm 0.29$	$1.00 \pm 0.87$
	Euthanasie	$2.17 \pm 1.04$	$3.00 \pm 0.00$
	Kontrollseite	$0.25 \pm 0.35$	$0.50 \pm 0.50$
Zellform	Tenotomie	$1.00 \pm 0.00$	$1.33 \pm 0.76$
	Euthanasie	$1.17 \pm 0.29$	$1.83 \pm 0.29$
	Kontrollseite	$0.75 \pm 0.35$	$0.50 \pm 0.50$
Vaskularität	Tenotomie	$0.33 \pm 0.29$	$0.50 \pm 0.50$
	Euthanasie	$0.67 \pm 0.58$	$2.00 \pm 0.87$
	Kontrollseite	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$
Chondroide Metaplasie	Tenotomie	$0.00 \pm 0.00$	$1.67 \pm 1.53$
	Euthanasie	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$
	Kontrollseite	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$
Proteoglykangehalt nach Toluidinblaufärbung	Tenotomie	$0.00 \pm 0.00$	$0.67 \pm 1.15$
	Euthanasie	$0.17 \pm 0.29$	$0.67 \pm 0.58$
	Kontrollseite	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$
Decoringehalt	Tenotomie	$1.67 \pm 0.58$	$0.67 \pm 0.29$
	Euthanasie	$0.50 \pm 0.50$	$1.33 \pm 0.76$
	Kontrollseite	$0.50 \pm 0.71$	$1.00 \pm 0.00$
Sehnenfaserkräuselung	Tenotomie	$1.00 \pm 0.00$	$1.67 \pm 0.58$
	Euthanasie	$2.00 \pm 0.00$	$1.33 \pm 0.58$
	Kontrollseite	$0.50 \pm 0.71$	$1.00 \pm 0.00$
Sehnenfaserausrichtung	Tenotomie	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$
	Euthanasie	$0.83 \pm 1.04$	$2.17 \pm 0.76$
	Kontrollseite	$0.50 \pm 0.71$	$0.00 \pm 0.00$

**Tab. 20: Ergebnisse der Sehnenbewertung mittels des Wertungssystems der Tiere mit erfolgreicher Refixation; Mittelwerte und Standardabweichungen zu den einzelnen Op-Zeitpunkten und der Kontrollseite am Euthanasiezeitpunkt.**

		KONTROLL-GRUPPE	IGF-GRUPPE	NANDROLON-GRUPPE
Zellzahl	Tenotomie	0.5 ± 0.57	0.38 ± 0.48	0.33 ± 0.29
	Implantation	2.83 ± 0.29	2.13 ± 0.85	2.67 ± 0.29
	Refixation	2.00 ± 1.73	3.00 ± 0.00	2.17 ± 1.44
	Euthanasie	2.13 ± 0.63	2.88 ± 0.25	2.50 ± 0.50
	Kontrollseite	0.50 ± 0.57	1.00 ± 0.41	0.83 ± 0.29
Zellform	Tenotomie	1.25 ± 0.50	1.13 ± 0.25	0.50 ± 0.50
	Implantation	2.00 ± 0.00	1.75 ± 0.50	2.50 ± 0.50
	Refixation	2.50 ± 0.50	2.00 ± 0.00	1.83 ± 0.76
	Euthanasie	1.50 ± 0.58	1.38 ± 0.48	1.17 ± 0.29
	Kontrollseite	0.63 ± 0.48	0.50 ± 0.41	0.83 ± 0.29
Vaskularität	Tenotomie	0.00 ± 0.00	0.50 ± 0.00	0.33 ± 0.29
	Implantation	2.17 ± 0.76	2.00 ± 1.22	1.00 ± 0.00
	Refixation	1.00 ± 1.00	3.00 ± 0.00	2.17 ± 1.44
	Euthanasie	1.00 ± 1.16	0.50 ± 0.41	0.67 ± 0.76
	Kontrollseite	0.13 ± 0.25	0.25 ± 0.29	0.00 ± 0.00
Chondroide Metaplasie	Tenotomie	0.00 ± 0.00	0.25 ± 0.50	0.00 ± 0.00
	Implantation	0.00 ± 0.00	0.75 ± 1.50	0.33 ± 0.58
	Refixation	0.33 ± 0.57	1.50 ± 2.12	0.33 ± 0.58
	Euthanasie	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.58
	Kontrollseite	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Proteoglykangehalt nach Toluidinblaufärbung	Tenotomie	0.50 ± 0.41	0.13 ± 0.25	0.83 ± 0.29
	Implantation	1.83 ± 0.76	1.00 ± 0.71	1.00 ± 0.00
	Refixation	0.67 ± 1.15	1.00 ± 0.00	0.50 ± 0.50
	Euthanasie	0.38 ± 0.48	0.63 ± 0.75	0.83 ± 0.29
	Kontrollseite	0.13 ± 0.25	0.25 ± 0.50	0.00 ± 0.00
Decoringehalt	Tenotomie	1.50 ± 0.58	1.88 ± 0.25	1.00 ± 1.00
	Implantation	1.67 ± 0.58	0.38 ± 0.48	0.67 ± 0.58
	Refixation	0.33 ± 0.58	1.50 ± 0.71	0.50 ± 0.50
	Euthanasie	0.75 ± 0.50	0.38 ± 0.48	1.00 ± 1.00
	Kontrollseite	0.50 ± 0.58	1.25 ± 0.50	0.50 ± 0.50
Sehnenfaserkräuselung	Tenotomie	1.50 ± 0.58	1.25 ± 0.50	1.86 ± 0.69
	Implantation	3.00 ± 0.00	3.00 ± 0.00	3.00 ± 0.00
	Refixation	3.00 ± 0.00	2.50 ± 0.71	2.67 ± 0.58
	Euthanasie	2.00 ± 0.82	1.75 ± 0.96	1.67 ± 0.58
	Kontrollseite	1.25 ± 0.50	1.00 ± 0.00	0.67 ± 0.58
Sehnenfaserausrichtung	Tenotomie	0.25 ± 0.50	0.25 ± 0.50	0.33 ± 0.58
	Implantation	2.00 ± 0.00	2.13 ± 1.11	2.50 ± 0.50
	Refixation	2.00 ± 0.87	2.00 ± 0.71	2.67 ± 0.29
	Euthanasie	1.13 ± 0.63	0.75 ± 0.96	1.67 ± 1.53
	Kontrollseite	1.13 ± 1.03	1.00 ± 0.71	0.67 ± 0.58

**Tab. 21: Gewicht der erfolgreich refixierten Mm. infraspinati und des jeweiligen M. infraspinatus der Gegenseite, mit und ohne Knochenfragment gewogen, in Gramm**

	KONTROLLGRUPPE	IGF-GRUPPE	NANDROLONGGRUPPE
Op-Seite	147.6 ± 43.2	147.2 ± 31.2	141.6 ± 19.8
Op-Seite ohne Fragment	141.1 ± 40.5	140.0 ± 31.3	134.5 ± 20.5
Gegenseite	209.3 ± 29.9	234.8 ± 18.7	223.1 ± 32.6
Gegenseite ohne Fragment	203.8 ± 30.7	226.5 ± 19.2	218.5 ± 32.4

**Tab. 22: Gewicht der nicht erfolgreich refixierten Mm. infraspinati und des jeweiligen M. infraspinatus der Gegenseite, mit und ohne Knochenfragment gewogen, in Gramm**

	KONTROLLGRUPPE	NANDROLONGGRUPPE
Op-Seite	143.5 ± 13.1	111.7 ± 6.0
Op-Seite ohne Fragment	131.2 ± 10.9	110.5 ± 3.5
Gegenseite	184.7 ± 20.3	235.4 ± 46.7
Gegenseite ohne Fragment	179.0 ± 19.3	229.7 ± 46.5

**Tab. 23: Volumen der erfolgreich refixierten Mm. infraspinati und des jeweiligen M. infraspinatus der Gegenseite in ml**

	KONTROLLGRUPPE	IGF-GRUPPE	NANDROLONGGRUPPE
Op-Seite	136.3 ± 47.9	139.2 ± 33.7	118.8 ± 27.8
Gegenseite	177.5 ± 34.8	198.3 ± 7.5	201.3 ± 34.3

**Tab. 24: Volumen der nicht erfolgreich refixierten Mm. infraspinati und des jeweiligen M. infraspinatus der Gegenseite in ml**

	KONTROLLGRUPPE	NANDROLONGGRUPPE
Op-Seite	108.3 ± 7.6	100.0 ± 0.0
Gegenseite	136.7 ± 20.8	193.3 ± 28.9

**Tab. 25: Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den operierten Muskeln und den Muskeln der kontralateralen Seite in den einzelnen Gruppen**

GRUPPE	PARAMETER	P-WERT
Kontrollgruppe	Gewicht mit Knochenfragment	0.006
	Gewicht ohne Knochenfragment	0.003
IGF-Gruppe	Gewicht mit Knochenfragment	0.000
	Gewicht ohne Knochenfragment	0.000
Nandrolonggruppe	Gewicht mit Knochenfragment	0.000
	Gewicht ohne Knochenfragment	0.000

**Tab. 26: Gruppenmittelwerte des Körpergewichts der Schafe zu den jeweiligen Zeitpunkten sowie Gewichtszunahme über den Gesamtzeitraum in kg**

ZEITPUNKT	KONTROLLGRUPPE	IGF-GRUPPE	NANDROLONGGRUPPE
Tenotomie	52.9 ± 5.3	57.9 ± 3.8	52.5 ± 2.3
Implantation	56.1 ± 6.4	61.1 ± 5.4	50.8 ± 1.5
Refixation	58.3 ± 7.0	63.3 ± 4.8	53.8 ± 3.9
Euthanasie	60.7 ± 6.6	69.4 ± 4.7	63.5 ± 2.9
Gesamtzunahme	7.9 ± 3.3	11.6 ± 2.4	11.0 ± 4.0

## Curriculum vitae

### Persönliche Daten

Name: Conze  
Vorname: Philipp  
Geburtsdatum: 21.11.1978  
Geburtsort: Goslar  
Staatsangehörigkeit: deutsch

### Schulausbildung

1985 – 1987 Grundschole **Mechernich**, Deutschland  
1987 – 1989 Luther-Schule **Greven**, Deutschland  
1989 – 1995 Gymnasium Augustinianum **Greven**, Deutschland  
1995 – 1998 Greselius-Gymnasium **Bramsche**, Deutschland  
(Abitur am 23.06.1998)

### Studium

09.2001 – 05.2003 Studium der Humanmedizin und der Biologie an der Ruhr-Universität **Bochum**, Deutschland  
05.2003 – 03.2008 Studium der Veterinärmedizin an der Justus-Liebig-Universität **Giessen**, Deutschland  
08.04.2008 Approbation als Tierarzt an der Justus-Liebig-Universität **Giessen**, Deutschland  
05.2009 – 03.2011 Anfertigung der Dissertation unter Leitung von Frau Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl ECVS an der Universität Zürich, Pferdeklinik, MSRU, **Zürich**, Schweiz

### Berufstätigkeit

05.2008 – 05.2009 Internship, Cotts Farm Equine Clinic, **Narberth**, Wales, UK  
05.2009 – 03.2011 Doktorand an der Universität Zürich, Pferdeklinik, MSRU, **Zürich**, Schweiz  
Seit 01.05.2011 Mitarbeiter der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Pferdeklinik, **Hannover**, Deutschland

---

## Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau **Prof. Dr. Brigitte von Rechenberg** für die freundliche Aufnahme in die Musculoskeletal Research Unit (MSRU), die Überlassung des Themas, sowie die herzliche und unermüdliche Betreuung und Unterstützung in fachlichen und persönlichen Belangen.

An Herrn **Prof. Dr. Anton Fürst**, Direktor der Pferdeklinik der Vetsuisse-Fakultät Zürich, geht mein herzlicher Dank für die Überlassung des Themas und die Unterstützung der MSRU.

Bei Herrn **Prof. Dr. Christian Gerber**, Ärztlicher Direktor und Chefarzt der Orthopädie an der Universität Zürich (Universitätsklinik Balgrist, Zürich), bedanke ich mich vielmals für die Leitung der Studie und die Übernahme des Korreferates.

Herrn **PD Dr. Dominik Meyer** und Herrn **Dr. Mazda Farshad** danke ich sehr herzlich für die unermüdliche Unterstützung sowie die freundliche und gute Zusammenarbeit. Ihre fachliche Expertise während der Operationen und bei der Auswertung der Resultate war von unschätzbarem Wert für das Gelingen der Studie.

Ganz besonders herzlich bedanke ich mich bei Frau **Dr. Karina Klein** für die Mithilfe bei den Operationen, die freundschaftliche Zusammenarbeit und die Unterstützung in allen nur vorstellbaren Belangen.

Vielmals bedanke ich mich auch bei Frau **Dr. Katja Nuss** für den immer bereiten freundlichen Rat und die folgende hilfsbereite Tat.

Sehr herzlich möchte ich mich auch bei Frau **Dr. Monika Hilbe** und Frau **Kati Zlinszky** für die Herstellung der vielen histologischen Präparate und für die geduldige und ausführliche Hilfe bei deren Auswertung bedanken.

Mein herzlicher Dank gebührt ebenso Herrn **Dr. Peter Kronen**, Frau **Dr. Michèle Sidler** und Frau **Nathalie Fouché**, für die fachgerechte Anästhesie der Tiere.

---

Allen meinen Kollegen aus der MSRU danke ich für die Hilfe und nette Zusammenarbeit, besonders erwähnen möchte ich an dieser Stelle **Käthi Kämpf**, **Isabel Mosch** und Herrn **Dr. Stefan Stübinger**.

Großer Dank gebührt auch Herrn **Rainer Egle** für seine unermüdlichen Bemühungen unsere Computer stets „problemfrei“ zu halten. Ohne ihn wäre so einiges nicht möglich gewesen.

Den **Tierpflegern** der Nutztierklinik danke ich für die Unterstützung während der Operationen und den **Fahrern** des Tierspitals für die immer freundliche Hilfsbereitschaft.

Dank auch an **Rösli** und **Gottfried Knüsel** für die wunderschönen Weihnachts- und Frühlingsfeste und die Fürsorge für die Schafe auf der Staffelegg.

**Meinen Eltern** und **meinen Schwestern** danke ich sehr herzlich für die liebevolle Unterstützung die mir in jeder Lebenslage sicher war.

---